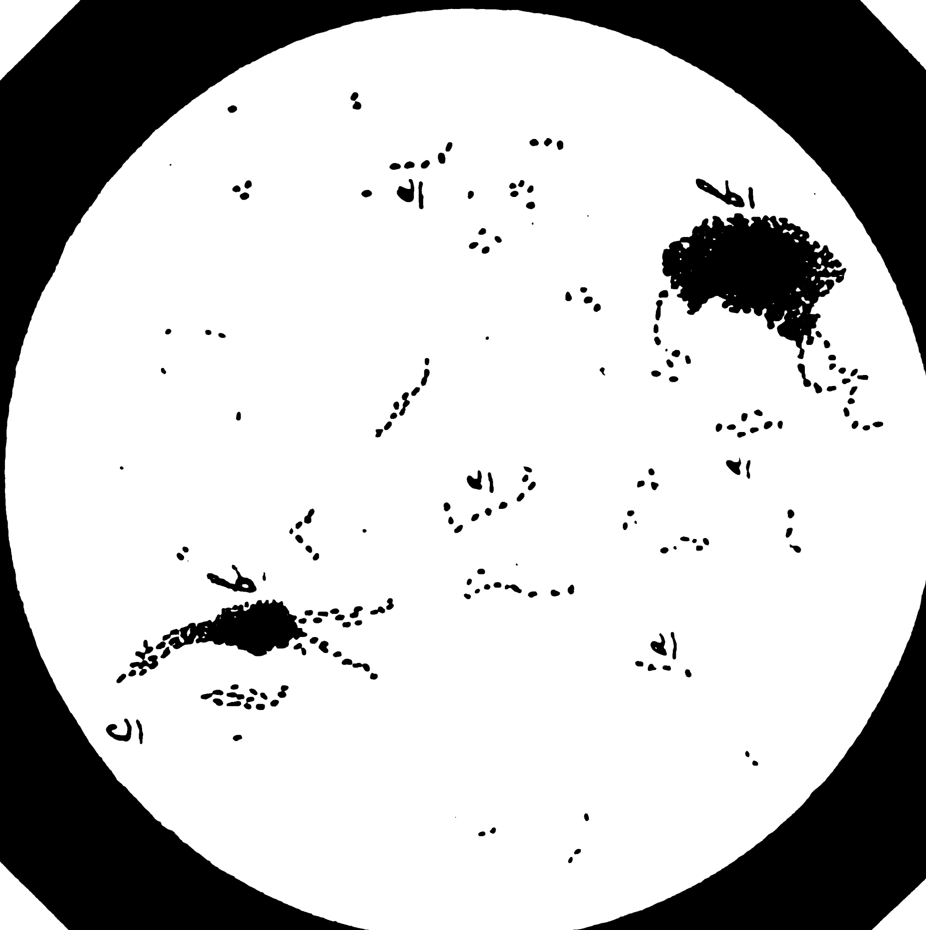
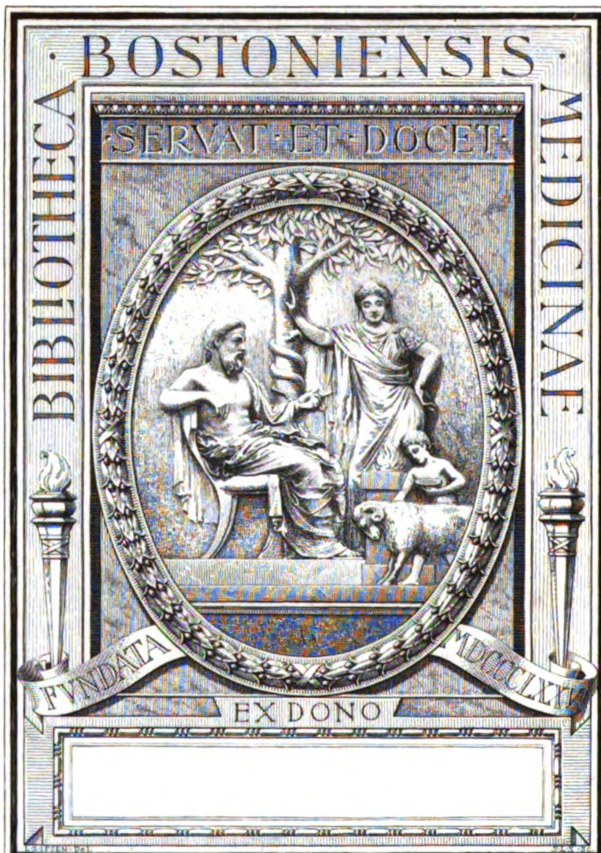


Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und ...


BIBLIOTHECA BOSTONIENSIS MEDICINAE
SERVAT ET DOCET
FUNDATA MDCCCLXX
EX DONO

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XII. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg. Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XII. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 17 Tafeln und 58 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1904.

CENTRALBLATT

FEB 23 1905

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. **Jena,** den 14. Mai 1904. **No. 1/3.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen. *Nachdruck verboten.*

Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien.

[Arbeit aus dem botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **Ernst Neide.**

Mit 3 Tafeln.

Einleitung.

Herr Prof. Arthur Meyer veranlaßte mich, die unter seiner Leitung durch Gottheil (1901) ausgeführte Arbeit an anderen

sporenbildenden Bakterienspecies fortzusetzen. Der maßgebende Gesichtspunkt war hier wie dort, durch genaue monographische Bearbeitungen einer größeren Zahl von Bakterienspecies den weiteren Ausbau der Bakteriensystematik zu fördern. In Bezug auf die von mir benutzte Methode verweise ich auf die Arbeit von Gottheil (1901) und auf Arthur Meyer (Practicum der botanischen Bakterienkunde. 1903). Hier will ich nur erstens diejenigen Abweichungen und Erweiterungen der Untersuchungsmethoden mitteilen, die gegenüber Gottheil von mir vorgenommen sind, und zweitens nochmals kurz auf diejenigen Punkte hinweisen, die mir im Laufe meiner Arbeit beachtenswert erschienen:

I. Abweichungen von der von Gottheil angewandten Untersuchungsmethode und Erweiterungen derselben.

1) Beobachtungssystem: Ich benutzte bei allen meinen Beobachtungen eine neuere homogene Immersion $^1/_{12}$, Apert. 1,25 von Zeiß-Jena, mit Okular 12 für die feineren Untersuchungen, mit Okular 4 zur Uebersicht. Gottheil hatte ein älteres System von Zeiß benutzt. Mit meinem System war es mir möglich, überall an den Sporen der Species Exine und Intine zu unterscheiden, mit Ausnahme des B. lacticola A. M. et N. und des B. parvus, welch letzterer wegen der Kleinheit der Sporen die Differenzierung nicht zuließ.

2. Bezeichnungen: Den Bezeichnungen der Zellen und Stäbe als 1-, 2- u. s. w. lang (Arthur Meyer 1899, p. 493) habe ich die entsprechende μ-Zahl für 1-lang jedesmal bei der Beschreibung der Keimstäbchen hinzugefügt.

3. Neue, zur Bestimmung der Bakterienspecies benutzte Merkmale. A. Abtötungszeit der Sporen bei 100 und 80°. Arthur Meyer hat neuerdings in seinen bakteriologischen Uebungen als ein Charakteristicum der einzelnen Bakterienspecies die Abtötungszeit ihrer Sporen nach seiner Methode feststellen lassen (Practicum S. 127 ff.) Bei Befolgung dieses Verfahrens machte ich die Beobachtung, daß zur Erzielung eines sicheren Ergebnisses auf folgende Punkte ein besonderes Augenmerk zu richten ist: 1) Nach dem Abkochen darf das Reagenzröhrchen aus dem Kochtopf bezw. dem Thermostaten nicht so entnommen werden, daß die Flüssigkeit mit dem darüber befindlichen Teile des Reagenzröhrchens in Berührung kommt. Anderenfalls kann leicht Sporenmaterial, welches beim Impfen an der oberen Seitenwand des Röhrchens hängen geblieben und trocken geworden ist, mit in das Impfwasser zurückgerissen werden. 2) Bevor das abgekochte Material auf die Oberfläche des Agars gegossen wird, müssen diejenigen Teile des Reagenzröhrchens, welche über dem Spiegel des geimpften Wassers liegen, abgeglüht werden, damit das oben erwähnte, an den Seitenwänden befindliche Sporenmaterial sicher abgetötet ist. 3) Beim Abkochen auf 100° muß das Wasser stets sprudelnd bleiben. Vielleicht sind manche Angaben über relativ lange Tötungszeit auf die Nichtbeachtung dieser Punkte zurückzuführen. 4) Von wesentlichem Einfluß ist das Alter des Sporenmateriales. Bei einigen Species nimmt die

Widerstandsfähigkeit mit dem Alter der Sporen zu. B. lactis Flügge gab mit 16 Tage altem Material folgendes Ergebnis: (+ bedeutet Wachstum, — kein Wachstum): 1) 5′ +, 10′ +, 15′ — 20′ —, 30′ —, 2) 10′ +, 12′ —, 15′ —, 20′ —, 3) 11′ +, 12′ —, 15′ —; mit 3½ Wochen altem Material: 11′ +, 13′ +, 15′ +; mit 4½ Wochen altem Material: 1) 16′ +, 18′ +, 20′ +, 22′ +, 2) 22′ +, 25′ +, 30′ —; mit 5 Wochen altem Material: 25′ +, 30′ +, 35 +; mit 6 Wochen altem Material: 1) 40′ +, 50′ —, 60′ — 2) 40′ +, 50′ —, 60′ —; mit 11 Wochen altem Material: 40′ +, 45′ +, 60′ +; mit 16 Wochen altem Material: 60′ +, 80′ +, 100′ +; mit 6 Monat altem Material: 80′ +, 100′ +, 120′ +, 140′ —.

B. lacticola A. M. et N. 3 Wochen altes Material: 1) 12′ +, 15′ +, 20′ —, 2) 15′ +, 18′ +, 20′ —, 25′ —, 30′ —; 4½ Wochen altes Material: 18′ +, 20′ —, 23′ —, 25′ —; 6 Wochen altes Material: 1) 25′ +, 35′ —, 60′ —; 2) 25′ +, 28′ +, 30′ —; 6 Monate altes Material: 1) 25′ +, 30′ +, 40′ +; 2) 40′ —, 60′ +, 80′ +, 100′ +, 3) 100′ +, 120′ +, 140′ —.

Bei anderen Species scheint ein höheres Alter ohne Einfluß auf die Abtötungszeit zu sein. B. sphaericus, 3½ Wochen altes Material: 7′ +, 9′ —, 11′ —; 5½ Wochen altes Material: 1) 7′ +, 8′ +, 9′ —, 10′ —, 2) 8′ +, 9′ —, 10′ —; 1 Jahr altes Material: 5′ +, 10′ —, 20′ —, 30′ —.

B. alvei, 16 Tage altes Material: 10′ +, 12′ —, 13′ —, 14′ —; 3 Wochen altes Material: 11′ +, 12′ +, 14′ —; 7 Monat altes Material: 5′ +, 10′ +, 15′ —, 20′ —, 30′ —; 1 Jahr altes Material: 11′ +. 13′ —, 15′ —, 20′ —.

Voraussichtlich verhalten sich daher auch in dieser Beziehung die einzelnen Species individuell verschieden, und ist eine Angabe der Abtötungszeit nur dann als diagnostisches Merkmal zu benutzen, wenn das Alter der verwendeten Kultur genau angegeben ist. Zu meinen Feststellungen habe ich stets 5—6 Wochen altes Sporenmaterial genommen.

B. Das Volutin. Dieser eigenartige, von Prof. Arthur Meyer mit Namen belegte Reservestoff ist von Grimme eingehend an B. alvei und Spirillum volutans Kutscher untersucht worden.

Arthur Meyer (1903, S. 81) giebt die wichtigsten Reaktionen dieser Substanz an, welche ich auch bei meinen Untersuchungen stets anwandte. Außer bei den beiden oben erwähnten Species sind Volutinkugeln von Grimme nachgewiesen in B. cyanogenus (Pseudomonas syncyanea), B. asterosporus, B. fusiformis.

Von den durch Gottheil beschriebenen Arten sind von mir auf Volutin untersucht: B. carotarum, B. cohaerens, B. simplex, B. subtilis, B. Ellenbachensis, B. graveolens, B. mycoides, B. Petasites, B. ruminatus, B. tumescens, B. pumilis, B. fusiformis. Nur B. Ellenbachensis und B. fusiformis enthalten Volutin.

Unter den von mir beschriebenen Species besitzen außer

B. alvei Volutanskugeln die Bacillen robur, B. lactis Flügge, B. lacticola und B. sphaericus. Das Vorkommen des Volutins ist ein charakteristisches Merkmal für die Species. Bei manchen derselben tritt es als einziger, bisher sicher nachweisbarer Reservestoff auf, so bei: alvei, fusiformis, sphaericus; bei anderen neben der Fettspeicherung: B. Ellenbachensis, robur, lactis Flügge und B. lacticola, bei anderen neben der Glykogenbildung: B. asterosporus und cohaerens. Bei B. robur endlich findet sich das Volutin neben Glykogen und Fettbildung gleichzeitig.

C. Die Gram-Dauer. Unter dieser Bezeichnung ist nach Prof. Meyers Vorschlag die Entfärbungszeit zu verstehen, welche ein nach Grams Methode behandeltes Präparat zur Entfärbung bis zu einer gewissen Testfarbe, in 80 Proz. Alkohol, bei 28° Temperatur bedarf. Diese Entfärbungszeit ist bei genauer Innehaltung der von mir in besonderer Abhandlung (I. Abt.) festgelegten Bedingungen innerhalb gewisser Grenzen für die einzelnen Bakterienspecies konstant. Sie ist daher als Specieskennzeichen verwendbar, wenn man das in meiner Arbeit Gesagte genau beachtet, und ist von mir für jede einzelne Species ermittelt worden.

4) Die morphologischen, biologischen und physiologischen Eigenschaften der Bakterien auf verschiedenen Nährsubstraten. Während der Einfluß der verschiedenen Nährsubstrate auf die Wachstumscharaktere der Bakterienkulturen Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und Veröffentlichungen gewesen ist — Flügge I. p. 480 ff. und II. p. 87 ff. äußert sich darüber eingehend, — ist der Einfluß auf die Morphologie, Biologie und Physiologie weniger verfolgt worden. Kruse (Flügge I. p. 478) behandelt diese Frage nur kurz und besonders unter dem Gesichtspunkt der schädigenden Einflüsse antiseptischer Zusätze und der Möglichkeit, Variationen zu erzielen. Migula (I. p. 146, 154) streift die Frage nur flüchtig. Auch Gottheil hat dieser Seite der bakteriellen Lebensäußerung wenig Berücksichtigung zu Teil werden lassen, in der begründeten Absicht, der Unterscheidung der einzelnen Bakterienspecies ein für allemal feststehende, möglichst gleichmäßige Verhältnisse zu Grunde zu legen.

In der Beschreibung der von mir untersuchten Species habe ich dem Einfluß der verschiedenen Nährsubstrate in der bezeichneten Richtung mehr Wert beigelegt, nachdem ich bei der Arbeit mit meinen Species die großen morphologischen Unterschiede zwischen dem Wachstum auf Nähragar mit und ohne Dextrose beobachtet hatte.

A. Veränderungen der Bakterien auf Agar ohne Dextrose. Der Fortfall der Dextrose beim Nähragar macht sich in morphologischer, biologischer und physiologischer Beziehung bei den von mir untersuchten Species in folgenden Punkten bemerkbar: 1) Die Oidien sind durchgängig normaler gestaltet. Anschwellungen, Abrundungen, Zuspitzungen und alle Arten von Involutionsformen fallen entweder ganz fort oder halten sich doch

in weit engeren Grenzen. Die Breite der Stäbchen wird durchgängig nicht unwesentlich geringer; z. B. bei B. silvaticus 1,2—1,5 μ statt 1,4—1,9 μ, auf Dextroseagar (Fig. IIIh, 1—3). 2) Die Membran wird meist deutlich sichtbar und färbt sich mit den üblichen Reagentien scharf und intensiv, infolge der Verringerung der Schleimbildung. 3) Die Fettbildung der diesen Reservestoff bildenden Arten ist wesentlich eingeschränkt. 4) Die Glykogenbildung wird in bemerkenswerter Weise, wenigstens bei den B. teres und robur, nicht beeinträchtigt. 5) Die Stärke der Volutinbildung ist unverändert. 6) Die Fadenbildung nimmt bei fast allen Arten ab, besonders auffällig bei B. teres. Die Oidien der Fäden haben die normalen Formen. Auch fallen die oft als charakteristisch, besonders für B. megatherium, erwähnten Krümmungen der Fäden fort. 7) Die Sporen nehmen eine fast durchgehend normale Form an. Die Mannigfaltigkeit der Sporenformen und ihrer Lagen in den Sporangien ist eine weit beschränktere (Fig. Id 12, IIf 1, 2, IIIh 1—3, IVf 2, Vg 2, VIf 1, 2, 3). 8) Die Beweglichkeit ist bei den meisten Arten eine gesteigerte. 9) Die Entwickelungszeit von Spore zu Spore wird überall eine wesentlich kürzere. 10) Die Braunfärbung der Kolonie und des Agars von bräunenden Species ist eine merklich geringere.

B. Veränderungen in den verschiedenen Nährlösungen. Von der Voraussetzung ausgehend, daß eine Untersuchung der Gestalt, Entwickelung und Reservestoffbildung der einzelnen Bakterienarten in den verschiedenen Nährlösungen die Kennzeichnung der Arten erleichtern könne und mit Rücksicht darauf, daß manche der benutzten Nährlösungen leichter in einer gleichen Zusammensetzung hergestellt werden können, als der Nähragar, habe ich bei meinen Beschreibungen die Wuchsformen in den Nährlösungen eingehender behandelt, als es von Gottheil geschehen ist.

Aus der Intensität des Wachstums in den einzelnen Nährlösungen allein läßt sich ein Schluß auf das normale Gedeihen einer Species in denselben noch nicht ziehen. So bezeichnet Gottheil die Entwickelung des B. ruminatus in N.L. II mit der Intensität 3 (relativ gut) als nicht normale Entwickelung, in N.L. I mit der Intensität 4 (relativ sehr gut) als viel Involutionsformen enthaltend. Die Kultur des B. Petasites in N.L. V 8 hat die Intensität 4, besteht aber meist aus Involutionsformen; diejenige des B. graveolens in N.L. II hat die Intensität 4, zeigt aber ungesunde Entwickelung. Unter den von mir bearbeiteten Bakterien zeigte B. lacticola in N.L. II sehr starke Entwickelung (4), aber ganz anormale Wuchsformen. Dasselbe gilt von B. alvei in derselben Nährlösung, von B. teres in N.L. X. Starkes Wachstum vereinigt sich in den angeführten Fällen also auch mit ungesunder Entwickelung, und zwar liegt denselben nicht Erschöpfung des Nährsubstrates zu Grunde, sondern, wie ich feststellte, finden sich die Involutions- bezw. Degenerationsformen von Beginn der Entwickelung an. Es erscheint daher zur genauen

Kenntnis der Bakterienspecies angezeigt, die Variationsfähigkeit in den verschiedenen Nährlösungen soweit als möglich festzulegen.

Mit der eingehenden Untersuchung des Wachstums in den Nährlösungen suchte ich zugleich folgende Fragen zu beantworten: 1) Inwieweit befördern oder hemmen bestimmte Nährlösungen die Sporenbildung der einzelnen Species? 2) Lassen sich allgemeine Einwirkungen der Nährlösungen auf die Fadenbildung der Species feststellen? 3) Wird die Bildung der Reservestoffe Fett, Glykogen und Volutin durch die einzelnen Nährlösungen in erkennbarer Weise beeinflußt? 4) Die Abhängigkeit der Alkali- und Säurebildung von den Nährstoffen? — Naturgemäß zeigten sich in dem Verhalten der einzelnen Species in Bezug auf diese Fragen die größten Verschiedenheiten.

Zu 1): Es hatten B. robur und B. megatherium, auch B. alvei in den N.L. 0—II, B. silvaticus in 0 und I starkes Wachstum und keine oder nur vereinzelte Sporen. Dagegen wurden von B. lactis Flügge in N.L. II, von B. lacticola in I u. II, von B. sphaericus in 0–II bei starkem Wachstum zum Teil vorwiegend Sporen gebildet. B. sphaericus entwickelte in allen Nährlösungen, in denen er überhaupt wuchs, Sporen. B. teres und B. silvaticus Sporen nur mit beschränkten Ausnahmen N.L. (II u. IV). Auch bei ungenügender Ernährung wurden Sporen gebildet von B. robur und B. lacticola in N.L.IV, von letzterem auch in N.L. III u. Vγ.

Zu 2): Die Fadenbildung wird durch Zuckerzusatz, besonders durch Dextrose ganz im allgemeinen begünstigt. Diese Beobachtung stimmt mit derjenigen für Agar ohne Dextrose gemachten überein (s. o.). B. lactis Flügge zeigte in Pepton- und Asparaginlösungen nur kurze Fäden, in Asparaginlösungen mit Dextrose (N.L. X) lange Fäden. B. sphaericus, der normalerweise keine Fäden bildet, wuchs in N.L. X bis zu 70-stäbigen Fäden aus. B. silvaticus hatte in peptonhaltiger und Asparaginlösung ohne Kohlehydrate nur kurze, mit Kohlehydraten und in weinsaurem Ammonium lange Fäden.

Zu 3): Im großen ganzen wird die Fettbildung durch Dextrosezusatz wesentlich begünstigt, wie dies schon von der Einwirkung der Dextrose beim Nähragar angegeben ist. Eine Ausnahme bildet B. silvaticus, der in den peptonhaltigen Nährlösungen 0—II weniger Fett, und in der reinen Asparaginlösung und in der Asparaginlösung mit Glycerin (N.L. IV und Vδ) stark Fett speicherte.

Die Glykogenbildung scheint nach meinen Beobachtungen an B. teres mehr durch die Zuckerart als die Zuckermenge beeinflußt zu werden. Auffallend stark war die Glykogenspeicherung in mineralischer und asparaginhaltiger Nährlösung mit Dextrose (IX und X). Andererseits konnte ich einen merkbaren Unterschied zwischen einer Kultur auf Agar mit oder ohne Dextrose nicht feststellen.

Ebensowenig ließ sich auf Volutin eine Einwirkung des Zuckergehaltes nachweisen. B. sphaericus hatte in Asparaginlösung ohne und mit Rohrzucker gleich große, stark hervortretende Volutanskugeln. Ueberhaupt scheint die Volutinbildung sich den allgemeinen Ernährungsbedingungen der Volutinbildner entsprechend zu verhalten und mit dem Maximum und Minimum der günstigen Bedingungen zu und abzunehmen. Nur in den Fällen, wo die Fettbildung eine sehr starke ist, tritt anscheinend die Volutinbildung zurück.

Zu 4): Selbstverständlich ist allgemein die Alkalibildung in den Nährlösungen mit Stickstoffgehalt (N.L. IV—VIII und X) eine stärkere, als in denjenigen Nährlösungen, welche Stickstoff nur in geringerem Maße darbieten (N.L. 0—III). Unter den von mir bearbeiteten Species bildeten kein Alkali in peptonhaltigen Lösungen (N.L. 0—III), hingegen stark in anderen stickstoffhaltigen (N.L. IV—X außer IX) mit und ohne Kohlehydrate: B. robur, B. megatherium, B. teres, B. sphaericus und B. alvei, sehr schwach B. silvaticus. Am stärksten war die Alkalibildung fast immer in N.L. IV (nur Asparagin). Fast durchgängig nimmt, mit wenig Ausnahmen, die Alkalibildung durch Zuckerzusatz ab. Gegenüber den verschiedenen Zuckerzusätzen in V—Vδ, zeigte sich je nach der Species ein abweichendes Verhalten. In den Nährlösungen mit Ammoniak und in den Nitrit- und Nitratlösungen wurde Alkali, wenn überhaupt, nur schwach gebildet. Gleich starke Alkalibildung in pepton- und anorganischen Stickstofflösungen findet sich bei B. lactis Flügge und B. lacticola.

Säurebildung fand sich unter den von mir bearbeiteten Species nur in peptonhaltigen Nährlösungen und in N.L. IX. Zu ersteren gehören B. megatherium (0-II u. IX), B. lacticola (II), B. parvus (0—II), B. alvei (IX), B. robur (0—II). Gottheil hat abweichend Säurebildung, wenn auch nur schwach, 3 mal in Stickstoff enthaltenden Lösungen mit Kohlehydraten gefunden: B. graveolens in N.L. Vα, B. ruminatus in N.L. V, B. tumescens in N.L.V. und VII. Ein ganz eigentümliches Verhalten zeigt B. parvus. Er bildet Säure in N.L 0—II, stark Alkali in reiner Peptonlösung (N.L. III) und in N.L. IV und Vβ, überhaupt Alkali in V, Vα, Vδ und VIII.

II. Bemerkungen zu den von Gottheil für die Speciesbestimmung benutzten Merkmalen und Untersuchungsmethoden: Gottheils Ausführungen (p. 433 ff.) über „den Wert der für die Bestimmung der Arten der Bakterien benutzten Merkmale und über die benutzten Untersuchungsmethoden“ habe ich im Laufe meiner Arbeiten in jeder Beziehung bestätigen können. Es sind nur wenige Beobachtungen, welche ich zur Vervollständigung nachzutragen habe:

1) In Bezug auf die Wuchsformen im Gelatinestich ist zu beachten, daß bei Benutzung von Gelatine derselben Herkunft und bei gleicher Zusammensetzung der Nährgelatine ver-

schiedene Species: B. robur, B. alvei, B. sphaericus in den Wintermonaten Ausstrahlungen zeigten, in den Sommermonaten nicht. Die Temperatur hatte somit einen großen Einfluß auf diese Erscheinung. Vielleicht spielt dabei die wechselnde Konsistenz der Gelatine die Hauptrolle.

2) In Bezug auf Schleimbildung ist die von Gottheil (p. 452) mitgeteilte Beobachtung, daß frisch von einem Nährboden isolierte Bakterien anfangs schleimigere Kolonieen bildeten, als nach öfterem Umimpfen, von mir außer bei B. tumescens, bei B. Ellenbachensis, B. subtilis α, B. robur gemacht worden. Umgekehrt verhielten sich B. asterosporus, B. pumilis, B. parvus und B. sphaericus. Diese Species zeigten nach der ersten Uebertragung auf Dextroseagar ein kaum wahrnehmbares, feuchtes, glasiges Aussehen, nach öfterem Umimpfen allmählich einen sehr dünnen, weißgrauen Belag. Weißschleimig wurde die Kolonie im Laufe der Zeit nur bei B. parvus und pumilis.

3) Gottheil sagt (p. 450), daß für die Konstanz des Aussehens der Agarkulturen es von größtem Wert ist, stets von abgekochtem Sporenmaterial auszugehen, da das Aussehen der Kulturen selbstverständlich anders ausfallen muß, wenn man verschiedene Entwickelungsstadien in günstigere Ernährungsverhältnisse versetzt.

Ich möchte dem hinzufügen, daß auch die Menge des abgekochten Sporenmaterials insofern von Einfluß ist, als bei weniger aufgetragenem Material das Bild stets ein anderes wird, als bei reichlichem Material. Da die Entwickelung der ersten Tage in der Regel den Beschreibungen als Kulturmerkmal zu Grunde gelegt wird, habe ich zur Erzielung einer annähernden Gleichmäßigkeit stets eine kleine Platinöse (Drahtdicke 0,5 mm, innere Weite der Oese 2 mm) voll Material in $^1/_2$ ccm Wasser geimpft und hiervon 3 Platinösen auf die Agarfläche übertragen.

4) Ueber die Zeitdauer der Abkochung macht Gottheil (p. 451) die Bemerkung, daß er das Sporenmaterial ungefähr 1' lang in kochendem Wasser hielt. Ich habe gefunden, daß die nicht genaue Innehaltung der Abkochungszeit von 1' in folgender Beziehung Veränderungen hervorruft: a) Im Aussehen der Agarstrichkultur; b) In dem Zeitpunkt der Auskeimung der Sporen. Durch nur geringere Verlängerung der Abkochungszeit tritt bei einigen Bakterienspecies eine nicht unbedeutende Hinausschiebung der Keimung ein. Namentlich gilt dies von denjenigen Species, die eine nur kurze Abtötungszeit der Sporen haben. Die Gesamtentwickelung wird dadurch verzögert, der Eintritt der einzelnen Entwickelungsstadien, besonders diejenige der Sporenbildung, hinausgeschoben. Es ist daher wichtig, die Zeit von 1' bei der Abkochung genau innezuhalten, wenn man eine besondere Entwickelungsstufe auf Nähragar stets zu derselben Zeit wieder antreffen will. Nur zur Untersuchung der Sporenkeimung habe ich die Abkochungszeit auf 10 Sekunden beschränkt, weil dadurch einmal die Oidien abgetötet sind, und dann die Sporen durch die

geringere Abschwächung des Protoplasten in der großen Mehrzahl gleichzeitiger zum Keimen gebracht werden. c) In dem Zeitpunkt des Eintrittes und im Grade der anfänglichen Beweglichkeit.

5) Wenn Migula (I. 243) sagt: „Es ist ein sehr häufiger Fall, daß eine Bakterienart bei längerer Kultur ganz andere biologische Eigenschaften zeigt, als bei ihrem Auffinden, und daß es in keiner Weise gelingen will, ihnen die ursprüngliche zurückzugeben", so kann das im wesentlichen nur für die nicht sporenbildenden Species zutreffend sein. Auch läßt sich der Forderung Migulas (p. 245), „bei der Beschreibung einer Art sind die Eigenschaften maßgebend, die sie bei ihrem ersten Auftreten zeigt", schon aus dem Grunde nicht entsprechen, als die eingehende Beschreibung schon eine mehr oder weniger lange Kultivierung auf künstlichem Nährboden voraussetzt. Jeder Vergleich einer neuen Art mit einer bereits aufgefundenen und künstlich gezüchteten würde unmöglich. — Arthur Meyer setzt daher ausdrücklich fest (Practicum. p. 131), daß zur Entwickelungsgeschichte der Species, ohne deren eine Bestimmung der Bakterienspecies in den meisten Fällen ausgeschlossen ist, Kenntnis von mindestens vier Wochen in Kultur befindlichem, öfter aus abgekochten Sporen umgezüchtetem Material ausgegangen werden muß.

Die Aenderungen, denen auch die Sporen nach Form und Größe auf dem künstlichen Nährboden unterworfen sind, sind nach meinem Befunde nicht unerhebliche. Fig. VIIIa 7, 8 gibt einen Vergleich der Größenunterschiede zwischen den ursprünglichen Sporen des B. sphaericus und denjenigen einer mehrmonatlichen Kultur auf Dextroseagar. Fig. IIIa 14—16 zeigt verschiedene Formen des ursprünglichen B. silvaticus, und Fig. IIIa 1—12 die einer 6 Wochen alten Kultur. Im ersten Beispiel hat die Größe der Sporen zugenommen, im zweiten ist neben der gleichmäßigeren Gestalt im ganzen eine Abnahme der Größe festzustellen.

III. Die Beschaffung des Materials und die Herkunft der beschriebenen Bakterienarten.

Im hiesigen Institut war durch die Arbeiten des Kreistierarztes Grimme und von Dr. David Ellis eine größere Anzahl von Kulturen gesammelt, welche durch Isolierung von Gelatineplatten gewonnen waren und von mir einer Untersuchung unterzogen wurden.

Die Kulturen Grimmes entstammten dem Kot verschiedener Pferde, dem sie unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln zu drei verschiedenen Zeiten im Frühjahr 1901 entnommen waren. Von den 64 abgeimpften Agarröhrchen enthielten nur 23 sporenbildende Arten. In den übrigen hatten sich ausschließlich vegetative Formen entwickelt. Nach völliger Reinzüchtung der einzelnen Species unterzog ich sie einer eingehenden Untersuchung nach Arthur Meyers Methode. Dabei stellte sich heraus, daß sie mit Ausnahme einer Art, des B. parvus, alle mit den von Gottheil beschriebenen Bodenbakterien bis auf unbedeutende Abweichungen übereinstimmten. Es war dies in der ersten Pferdekotprobe je 2mal B. tumescens und B. Ellenbachensis. In der zweiten Probe wurden gefunden B. tumescens 3mal, B. asterosporus, B. Ellenbachensis, B. pumilis 2mal, B. mycoides 3mal, B. subtilis 4mal und B. parvus. Die dritte Pferdekotprobe enthielt den B. Ellenbachensis 2mal, den B. mycoides, B. pumilis und B. parvus.

David Ellis hatte beim Suchen nach Sarcina-Arten gleichfalls eine große Anzahl Kulturen von Gelatineplatten auf Dextroseagar abgeimpft. Die Herkunftstellen bildeten Kuhmist, Tauben- und Hühnermist, Jauche, Straßenschlamm und Schlamm des Teiches im hiesigen botanischen Garten. In Mist und Jauche waren sehr häufig B. subtilis und B. Ellenbachensis vertreten; im Straßenschlamm mehrfach B. mycoides, B. Ellenbachensis, B. subtilis, B. asterosporus, im Schlamm des Teiches B. Ellenbachensis, B. subtilis, außerdem B. sphaericus. Mit Ausnahme des letzteren waren also auch diese Arten sämtlich mit den Bodenbakterien Gottheils identisch.

Von mir wurden zunächst auf sporenbildende aërobe und fakultativ anaërobe Bacillen untersucht das modernde Holz verschiedener Baumstämme, der Fichte, der Cypresse, der Buche, der Ulme, der Eiche, und zwar aus hiesiger Gegend, wie auch aus dem Thüringer Walde und aus der Neumark. Sehr häufig fanden sich die Species B. Ellenbachensis, B. mycoides, B. pumilis, B. tumescens, B. subtilis und B. asterosporus. An neuen, von Gottheil nicht beschriebenen Arten isolierte ich aus dem Holz der Eiche den B. robur, aus dem der Eiche und der Cypresse den B. sphaericus. Demnächst legte ich Plattenkulturen von Gelatine, von Kartoffel- und hauptsächlich von Heydenagar (vergl. Arthur Meyer) an, mit Bodenproben aus Waldboden. Die Herkunftsstellen waren die vorstehend angegebenen, sowie außerdem der Haide- und Marschboden des südlichen Holsteins. Dabei wurde unterschieden sandiger, lehmiger und mooriger Boden. In sandigem Boden waren besonders vertreten B. Ellenbachensis und B. mycoides, im lehmigen daneben B. tumescens, B. asterosporus, B. pumilis, B. subtilis, B. cohaerens und B. robur. Im moorigen Boden kam außer den angeführten sehr häufig, bisweilen ausschließlich, B. sphaericus vor. Aus dem Waldboden des Thüringer Waldes isolierte ich als neue Species den B. silvaticus.

Von den Plattenkulturen zeigte der Kartoffelagar und der Nähragar im Vergleich mit den Gelatineplattenkulturen in allen Fällen ein reichlicheres Wachstum nach Zahl und nach Art der einzelnen Bakterien und eine der Zahl und der Art nach größere Menge von Kolonieen. Diese beiden Nährsubstrate haben außerdem den großen Vorzug, daß man sie im Brutschrank bei 28° halten und somit einer vielen Species günstiger liegenden Entwickelungstemperatur aussetzen kann. Da sie überdies der Verflüssigung nicht ausgesetzt sind, ist einerseits die Beobachtung der Entwickelung, andererseits die Isolierung der Kolonie oft für viele Wochen gewährleistet.

Der Zahl nach sind von mir 53 verschiedene Proben der modernden Baum- und der Walderde untersucht worden. Der Zeit nach waren sie im Sommer, Herbst, Winter und Frühjahr 1902/03 dem Boden entnommen. In letzter Hinsicht ist von mir ein Unterschied in der Häufigkeit des Vorkommens einzelner Species nicht bemerkt worden.

Die Bestimmung der Species erfolgte bei einigen Arten nur durch die Untersuchung und Zeichnung der leicht kenntlichen Sporen, so bei B. asterosporus, B. tumescens, B. sphaericus, B. pumilis. Die übrigen Arten wurden zur Feststellung ihrer Identität neben der Sporenzeichnung in ihrem Entwickelungsgang auf Dextroseagar, in ihrem Wachstum in den für sie charakteristischen Nährlösungen, auf ihre Reservestoffbildung, und bei entstehendem Zweifel, genauer unter Vergleichung mit den Originalkulturen untersucht.

Wenn trotz der großen Zahl der Waldbodenprüfungen nur eine verhältnismäßig so geringe Zahl unterscheidbarer, sporenbildender, aërober und fakultativ anaërober Bakterienspecies von mir aufgefunden ist, so mag das zum Teil der Beschaffenheit der Kulturmedien zuzuschreiben sein. Anderenfalls muß man zu der Ueberzeugung gelangen, daß die Zahl der im Ackerboden (vgl. Gottheil) und im Waldboden vorkommenden, sporenbildenden aëroben und fakultativ anaëroben Bakterienarten nur eine beschränkte ist. Ein abschließendes Urteil darüber vermag jedoch nur eine fortgesetzte methodische Untersuchung zu geben.

In den menschlichen Faeces fand ich in 3 untersuchten Proben von sporenbildenden Species nur den B. subtilis mit starker Schleim- und Glykogenbildung auf Dextroseagar, sowie den B. pumilis. Aus der Kuhmilch isolierte ich in drei verschiedenen Proben den B. tumescens und B. graveolens und aus einer sauer gewordenen Probe den B. teres.

Zum Vergleich zog ich ferner noch heran B. lactis Flügge I und V, die mir außer anderen Species in dankenswertester Weise vom Herrn Autor zur Verfügung gestellt wurden, sowie den in gleicher Weise mir überlassenen B. megatherium von Dr. B. Heinze.

Der zum Vergleich mit B. sphaericus noch beschriebene B. alvei war durch Prof. Meyer von Dr. A. Krompecher-Budapest bezogen worden.

Bacillus megatherium Heinze.

Wahrscheinlich synonym: Bacillus megatherium de Bary (Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. 1884.)

Möglicherweise synonym: Bacterium hirtum (Henrici, Beitrag zur Bakterienflora des Käses. [Arbeiten aus dem bakteriol. Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe. 1898). — Bact. sessile (Klein) Mig. — syn.: Bacillus sessilis (Klein, Botanische bakt. Studien. I. C.Bl. f. Bakt. Bd. VI. 1889. p. 10). — Bact. brassicae (Pommer) Mig. [Ein Beitrag zur Kenntnis der fadenbildenden Bakterien. (Mitt. d. botan. Inst. Graz. 1886. Bd. I. p. 95)]. — Bact. anthracoides (Hueppe und Wood) Mig. (nach Flügge, Mikroorganismen. 1896. p. 232). — Bact. pseudanthracis (Wahrlich) Mig. (Wahrlich, Bakteriol. Studien. Petersburg 1890/91. p. 26). — Bact. flexile Burchard (Burchard, Beiträge z. Morph. u. Entwickel.-Gesch. d. Bakt. Ins.-Diss. 1897. [Arbeiten aus d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe. Bd. II. 1898. Heft 1. p. 11)].

Die Arbeit von Berthold Heinze (1902) bewog mich, den B. megatherium auf seine morphologischen, biologischen und physiologischen Eigenschaften nach den im hiesigen Institute benutzten Methoden zu untersuchen und zu beschreiben. Es war nicht ausgeschlossen, daß der Heinzesche Bacillus mit einem der von Gottheil untersuchten sporenbildenden Bakterien identisch war. Dr. Heinze hatte die große Freundlichkeit, mir seinen B. megatherium zur Verfügung zu stellen. Ob dieser mit dem von de Bary beschriebenen identisch ist, ist durchaus fraglich. Die Daten und Abbildungen, die de Bary gibt, sind zur Wiedererkennung nicht genügend. Eine sicher von dem Original de Barys abstammende Kultur ist, so viel ich weiß, nicht mehr vorhanden. Bezeichnend für die Unklarheit über die bestimmte Species ist der Umstand, daß das Králsche Institut noch in dem neuesten Katalog 1902 den B. megatherium synonym mit B. Ellenbachensis und Caron setzt. Trotzdem möchte ich nicht unterlassen, zu betonen, daß die von de Bary angegebenen Eigenschaften seines B. megatherium dem vorliegenden Bacillus auch zukommen.

Wir wollen der vorliegenden Species, welche sich als verschieden von den von uns bisher genau untersuchten Formen herausstellte, den Autornamen Heinze lassen, obschon die von Heinze beschriebenen Eigenschaften des Pilzes zu seiner Unterscheidung von letzteren nicht ausreichen würden.

Die Sporen. Die Sporenform und Größe ist selbst im Vergleich mit anderen Species eine auffallend mannigfaltige. Die normalen Sporen sind entschieden mehr oval als cylindrisch. Bisweilen sind sie in ihrem größten Querdurchmesser noch besonders ausgebaucht. Besonders gut läßt sich dies bei Färbung der Sporen mit Methylenblau 1+10 beobachten (Fig. Ia, 1, 3, 5, 6). Manche

Sporen lassen auch an einem oder an beiden Enden ein schwaches Spitzchen erkennen. Im übrigen sind die Pole mehr abgeflacht als konvex gewölbt (Fig. Ia, 1, 5, 6, 7).

Neben der normal-ovalen Form der Sporen kommt ziemlich oft eine bohnenähnliche vor. Die eine Seite ist gerade, mitunter sogar nach der konvexen Seite schwach eingebogen (Fig. Ia, 4, 8, 9). Auch lassen sich fast rundliche Sporen beobachten (Fig. Ia, 10). Häufig sieht man in jüngeren, nur einige Tage alten Kolonieen die Sporen des B. megatherium zu 3, 5 bis 12 aneinanderhängen, sowie sie sich in den Sporangienfäden gebildet haben. Die Ursache ist in der starken Schleimbildung zu suchen, welche die Sporen auch nach Auflösung der Sporangienmembran zusammenhält. Die einzelnen Sporen sind in diesem Falle von einer dünnen Schleimschicht umgeben, die schon ungefärbt, noch besser mit Fuchsin 1 + 10 hervortritt. Die Sporenform und -Größe ist dann ganz besonders abweichend und anormal (Fig. Ia, 11). Die Membran der Sporen erscheint in ungefärbtem und gefärbtem Zustande verhältnismäßig dick und überall gleichmäßig. Bei guter Beleuchtung ist bei 14 Tage und darüber altem Material die Exine und die ziemlich schmale Intine an einzelnen Sporen in ungefärbtem Zustande zu erkennen. Methylenblau 1 + 10 färbt die Exine etwas stärker, die Intine tritt jedoch nur manchmal hervor. Fuchsin 1 + 10 macht die Differenzierung ganz deutlich, besonders bei den Querschnittansichten (Fig. Ia, 12). Diese sind nicht kreisrund, sondern ungleichmäßig polyedrisch, mit abgestumpften Ecken. Die Sporengröße beträgt normal 1,5 μ lang, 0,9 μ breit. Die größeren Sporen sind 2,1 μ lang, 1,2 μ breit. Ausnahmsweise große Sporen hatten bei einer Breite von 1,1 μ eine Länge von 2,3 μ. Die kleinsten Sporen waren 1,4 μ:0,7 μ. Auf das „bläuliche“ Aussehen der Sporen, das Heinze, vor ihm de Bary und Kolkwitz, erwähnt, ist meines Erachtens wenig Wert zu legen. Diesen bläulichen Schein haben die Sporen der Bakterien bei mittlerer Einstellung des Objektivs und halbgeöffneter Blende sehr häufig.

Die Keimung der Sporen ist vorherrschend polar. Bisweilen erfolgt sie auch etwas seitlich des Poles, oder die Sporenmembran reißt einseitig im Aequator auf (Fig. Ib, 1—9). Der Eintritt der Keimung erfolgt auf Dextroseagar bei 28° nach 4—5 Stunden.

Die Keimstäbchen (1-lang = 3,9 μ). Die Breite der Keimstäbchen ist der Größe der Sporen, denen sie entwachsen, entsprechend. Normal beträgt sie 1,5 μ, doch kommen schmälere bis zu 1 μ, breitere bis fast 2 μ vor. 5 Stunden nach der Impfung auf Dextroseagar fand sich ein Stäbchen von reichlich 2 μ Breite, das die Sporenmembran allerdings nicht mehr trug. Die Keimstäbchen werden etwas mehr wie 1-lang. Sie lassen sehr frühzeitig Septierungen erkennen (Chlorzinkjod) und zeigen ebenso schon früh breite Zwischenmembranen. Die Zellen sind $^1/_2$-lang und etwas kleiner.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. Nach 6—7 Stunden haben sich 2- und 3-stäbige Fäden entwickelt, deren Stäbe 1—4-zellig sind. Die Stäbchen zeigen frühzeitig einen nicht homo-

genen Protoplasten (Zellsaftvakuolen). Die Membran erscheint in ungefärbtem Zustande breit. Mit Methylenblau 1 + 10 und Jodjodkalium schw. ist sie kaum von den gefärbten Protoplasten zu unterscheiden, mit Fuchsin 1 + 10 tritt sie als stark schwarzrot gefärbte Umgrenzung hervor. Sie ist meist an den Enden der Stäbchen gewölbt konvex, doch kommen auch abgeflachte Membranenden vor. Nach 10—12 Stunden beobachtet man im Protoplasten die ersten Körnchen (Fig. Ic, 1). Diese Körnchen sind Fettkugeln. Gleichzeitig treten viele Einzel- und Doppelstäbchen auf, erstere wenig über 1-lang und herunter bis $^1/_2$-lang, letztere in den Stäbchen bis 2-lang und 2-zellig (Fig. Ic, 2, 3). Auch bilden sich bis 8-stäbige Fäden mit sehr kurzen, bis $^1/_4$-langen Zellen der Stäbe. Die Fettspeicherung nimmt rasch zu, und mit ihr die Anschwellung der Zellen und Stäbe. Volutanskugeln konnten in dieser, wie auch in den späteren Wachstumsperioden nicht nachgewiesen werden. Bei sehr langer Einwirkung des Methylenblau 1 + 10 färbten sich nur einzelne Teilstücke des Protoplasten dunkler als gewöhnlich. Zwischen den Fetttropfen liegend nehmen sie bisweilen auch eine rundliche Form an. Nach 18—20 Stunden (Fig. Id, 1—7 beginnt die Sporenbildung. Vorherrschend sind Doppelstäbchen und 4-stäbige, demnächst 5 bis 10-stäbige Fäden. Eigentümlich ist die gebogene oder auch gebrochene Form der Fäden. Diese Biegungen finden sich zwar auch bei anderen, dem B. megatherium nahestehenden Species, wie z. B. bei B. tumescens und B. Ellenbachensis, treten aber doch nicht so durchgehend allgemein auf. Sie erstrecken sich bei B. megatherium selbst auf die Doppelstäbchen, die oft im Winkel zueinander stehen. Der Grund liegt in der schleimigen, wenig konsistenten Zwischenmembran, die sich mit Methylenblau 1 + 10 und Jodjodkalium s garnicht und selbst mit Fuchsin nur schwach färbt. Mit der Beseitigung der Schleimbildung fällt dieses Charakteristicum fort. Vgl. Wachstum auf Agar ohne Dextrose.

Eine weitere Eigentümlichkeit dieses Entwickelungsstadiums ist die ganz ungleichartige Länge der Stäbchen und Zellen in den Fäden. In demselben Faden kommen 1-lange septierte und unseptierte und kaum $^1/_2$-lange Stäbchen mit und ohne Sporenanlagen vor, so daß Längen- und Querdurchmesser oft gleich groß sind. Diese Unregelmäßigkeit in Stäbchen- und Zellbildung im kräftigsten Entwickelungszustand, ohne daß abgestorbene Teile dazwischen liegen, findet sich bei anderen Species weniger (Fig. Id, 1—7). Die Breite der Stäbchen schwankt zwischen 1,6 und 2 μ Am schmalsten sind einzelne 1-lange Sporangien und einzelne Doppelstäbchen: 1,2—1,6 μ. Es ist stark Fett aufgespeichert. Nach 20 Stunden finden sich bereits einzelne, völlig ausgereifte und mit Membran umgebene Sporen in den Stäbchen. Sie sind endständig. In den Fäden liegen sie, abgesehen von den Endstäbchen, vielfach schräg bis senkrecht, oft auch parallel der Längsachse des Stäbchens einer Seite dicht an (Fig. Id, 3, 7). Die normalen, d. h. gleichmäßig oval gebildeten Sporen, wachsen meist in den Einzel- und Doppelstäbchen und in den Endzellen der Fäden. Die hiervon

abweichenden Formen entstehen in den Mittelstäbchen der Fäden. Am verschiedensten gestaltet sind die Sporen im oberen Teil der Agarkolonieen (Fig. Ia, 11). Die Ursache hiervon liegt in den mangelhaften Ernährungsbedingungen, in der dichten Zusammenhäufung beim Wachstum und in dem frühzeitig eintretenden Austrocknen der oberen dünnen Agarschicht im Reagensröhrchen.

Von 20—30 Stunden findet in den Agarkolonieen eine weitere Ausbildung der Sporangien, sowie ein weiteres Wachstum und Teilung der Fäden statt. Die Sporangien mit reifen Sporen werden vollständig blaß und lassen die Sporen stark hervortreten. Methylenblau färbt nur die äußere Sporenmembran, Fuchsin färbt auch noch die ursprüngliche Sporangienmembran, aber nur schwach, ein Zeichen, daß die Membran allmählich verschleimt. Nach der Sudan-Methylenblaumethode werden in den vollständig entwickelten Sporangien die Sporenmembran gerötet, die wenigen etwa noch vorhandenen Protoplasmareste blau gefärbt. Nach ungefähr 40 Stunden sind außer vielen freien Sporen gekrümmte, 4-stäbige Fäden, und unter den mehrstäbigen die 8-stäbigen am häufigsten. 20- und mehrstäbige sind selten. Die Sporangienanlagen sind jetzt nicht mehr so gleichmäßig in der Aufeinanderfolge, wie in dem vorausgegangenen Stadium. Zwischen ihnen liegen abgestorbene und sieche Stäbchen. Die Entwickelungsfähigkeit hat jetzt ihren Höhepunkt überschritten. Viele Fäden nehmen die Färbungen nur noch schwach auf. Protoplasmareste sind in manchen Fäden nicht mehr zu erkennen. Es treten Involutionsformen der Stäbchen in den Fäden, anormale Verlängerungen und Zuspitzungen auf. Die Fäden sind in größter Abwechslung gewunden (Fig. Id, 10). Doch speichern sie noch stellenweise Fett und bilden besonders in den Endzellen vereinzelt noch Sporen. Die normale Gesamtentwickelung des B. megatherium von Spore zur Sporenbildung verläuft somit unter den angegebenen Verhältnissen in der Zeit von 20—25 Stunden.

Die Beweglichkeit. Heinzes Bemerkung, daß bei unserem Bacillus eine nennenswerte Beweglichkeit nur schwer zu konstatieren ist, kann ich nach vielen eingehenden Beobachtungen bestätigen. Daß der Bacillus 4—8 Geißeln mit seitlicher Richtung besitze, folgert Heinze nach Mitteilung anderer Forscher (z. B. Messea), die selbstverständlich wertlos sind, weil man nicht weiß, ob sie sich auf den gleichen Bacillus beziehen. Er selbst hat keine Geißelfärbeversuche gemacht.

Nach dem Vorgange von D. Ellis habe ich verschiedene Versuche angestellt, B. megatherium beweglicher zu machen, als es nach den geringen, der Molekularbewegung so ähnlichen Bewegungsschwingungen der Fall war.

1) Das abgekochte Sporenmaterial wurde nach 16-stündigem Wachstum auf Dextroseagar bei 28° Brutschranktemperatur auf ein neues Agarröhrchen geimpft und dies Verfahren von 12 zu 12 Stunden 15-mal wiederholt. Von der 5. Umimpfung ab setzte ich abwechselnd das Röhrchen in einen Keller, in welchem die Temperatur 10° nicht überstieg, und in den Brutschrank, je 12 Stunden.

Fäden sah man jetzt nicht mehr, nur noch Einzel- und Doppelstäbchen. Die Schleimbildung war vollständig verloren gegangen. Die Sporenbildung unterblieb völlig. Eine stärkere Bewegung, wie im Anfang, war nicht zu erkennen. Tägliche Geißelfärbungsversuche, Versuche unter Abänderung der Einwirkungszeit der Beize und des Färbemittels, sowie die Erhitzung mit dem letzteren ergaben stets negative Resultate. Nur 2-mal, nach der 8. und nach der 13. Umimpfung, fand ich je ein Stäbchen, das Neigung zur Anlage von Geißeln anzudeuten schien. In der die Stäbchen noch schwach umgebenden Schleimhülle zeigten sich an den Seiten der Membran kurze, verdickte, borstenähnliche Ansätze (Fig. Id, 8). 2) Die Stäbchen wurden in gleicher Weise, wie vorstehend von Dextroseagar 3-mal auf Spirillenagar und dann noch 3-mal auf Agar ohne Dextrose umgeimpft. Die Röhrchen standen abwechselnd von 12 zu 12 Stunden bei Zimmer- und Kellertemperatur. Die Beweglichkeit war keine größere. Die Geißelfärbung gelang in vielen inzwischen ausgeführten Präparaten ebensowenig als im Anfang. 3) Das Stäbchenmaterial vom 2. Versuch wurde in eine aus Asparagin, Rohrzucker und mineralischer Nährlösung zusammengesetzte Nährlösung (No. Vα) übergeimpft. Die Stäbchen speicherten hier wieder Fett und bildeten 4—8-stäbige Fäden. Auch kamen Einzel- und Doppelstäbchen vor. Nachdem das Röhrchen 6 Tage lang abwechselnd bei Zimmer- und Kellertemperatur gehalten war, wurde der Versuch abgebrochen, da die zu verchiedenen Zeiten gemachten Untersuchungen keine Bewegung der Stäbchen erkennen ließen.

Wachstum auf Agar ohne Dextrose. Nach 15 Stunden waren vornehmlich 2- und 4-stäbige, je 2-zellige Fäden vorhanden, daneben ganz vereinzelte, bis 20-lange, ungleichmäßig septierte und ebenso ungleichmäßig in Stäbchen gegliederte Fäden. Zwischen den Stäben zeigten sich manchmal größere Abstände. Die Membran war dick und in ungefärbtem Zustande scharf begrenzt. Die Stäbchen und Fäden hatten die Krümmungen, welche sie auf Dextroseagar zeigten, und die als Charakteristicum des Bacillus angegeben wurden, vollständig verloren (Fig. Ia, 13). Mit Methylenblau 1 + 10 erschien der Protoplast homogen, mit Fuchsin von einzelnen dunkleren und helleren Stellen durchsetzt. Mit Jodjodkalium s ließen sich kleine Fetttropfen nachweisen, die Membran wurde braunrot. Nach 22—24 Stunden sah man hauptsächlich Doppelsporangien, meist 2-zellig und mit je 4 endständigen Sporen versehen, demnächst 1-stäbige, 2-zellige mit 1—2 Sporen, in geringer Anzahl 4-stäbige, 2-zellige mit 6—8 Sporen. Die Fettspeicherung war ganz gering. Auch die Größenverhältnisse der Sporangien zeigten gegenüber dem Wachstum auf Agar mit Dextrose deutliche Veränderungen. Sie waren länger und schmäler, ca. 5 μ : 1,2 — 1,3 μ (Fig. Ie, 12). Nach 36—40 Stunden des Wachstums des Bacillus fanden sich viel freiliegende Sporen. Die Form derselben war eine bemerkenswert normale und etwas weniger oval als auf Dextroseagar.

Der Einfluß des Traubenzuckers auf die morphologische Ge-

staltung des B. megatherium tritt daher in recht bemerkenswerter Weise hervor.

Agarstrich. Nach 8 Stunden waren nur wenige glasige Pünktchen zu erkennen. Nach 15 Stunden schmutzig-weiße, in einzelnen Häufchen liegende Kolonieen. Nach 24 Stunden grauweißer, zusammenhängender, mattglänzender Belag, der mit der Nadel leicht abnehmbar war. Nach 2—3 Tagen zeigte sich der Belag schleimig grau-weiß, mitunter am oberen Teile rosafarben angehaucht. Der Agar begann sich nach 3 Tagen zu bräunen. Die Bräunung nahm in den nächsten Tagen stark zu. Alte Kulturen hatten ein gelb-rötliches, schleimiges Aussehen. Das Kondenswasser blieb ungeschüttelt dauernd klar. Auf dem Grunde sammelte sich zunehmend ein weißer, wolkiger Niederschlag. — Die Kolonie auf Agar ohne Dextrose unterschied sich durch das wässerige, der Agarfarbe ähnliche Aussehen. In 4—6 Tagen alten Kulturen wurde sie etwas weißer, blieb aber verhältnismäßig dünn und bräunte in älteren Kulturen weder den Agar, noch sich selbst. Gelatineplatte. Am 2. Tage zeigten sich runde weißliche Kolonieen, die mit der Lupe am Rande wässerig durchsichtig erschienen. Mikroskopisch waren es runde, am Rande bisweilen ganz flach ausgeschweifte, aber gegen die Gelatine gewöhnlich scharf absetzende Kolonieen. Am Rande erschienen sie fein, in der Mitte stark grob gekörnt oder kurz gestrichelt, hell grau-braun. Man erkennt eine unregelmäßige Lage der Zellfäden.

Nach 5 Tagen war das Wachstum der tiefer gelegenen Kolonieen wenig vorgeschritten. Die Oberflächenkolonieen glänzend grauweiß, vereinzelt oval, wölbten sich ziemlich hoch über die Gelatine. Nach 9 Tagen zeigten die letzteren am Rande eine leichte Verflüssigung. Eine Platte mit viel Material verflüssigte einmal ganz, infolge der hohen Zimmertemperatur (über 22°). Bei Abkühlung der Temperatur auf 18° wurde sie wieder fest und erst nach $1^1/_2$ Wochen begann sie am Rande der Kolonieen langsam zu verflüssigen. Gelatinestich. Nach 2 Tagen ist der Stich makroskopisch durch kleine, weißliche Körnchen bezeichnet, die bis auf den Boden des Reagenzglases reichen. An der Einstichstelle bildete sich über der Oberfläche eine grauweiße, glänzende Kolonie. Nach 5 Tagen begann die Kolonie sackartig in die Gelatine hineinzuwachsen. Nach $3^1/_2$ Wochen hatte die sackartige Versenkung eine Tiefe von ca. 1 cm. Die Kolonie war fadenziehend und bestand aus meist abgestorbenen Einzel- und Doppelstäbchen, sowie bis 40-langen unseptierten Fäden. Vereinzelt kamen auch 1stäbige endständige Sporangien vor. Die gesunden Stäbchen waren kaum 1 μ breit und enthielten nur selten Fetttröpfchen. Agarstich. In Heyden-Agar entwickelte sich der Bacillus gut. Nach 8 Tagen waren an der Einstichstelle auf der Oberfläche einige sandkorngroße Kolonieen entstanden, im Inneren verbreiterte sich der Stich. Die untersten Kolonieen wuchsen flockenartig nach den Seiten aus. Möhrenscheibe. Nach wenigen Tagen waren tropfengroße Kolonieen von weißgrauem, schleimig glänzendem Aussehen gewachsen. Nach 8 Tagen wurde die ganze 3 qcm große Scheibe

mit einer mehrere Millimeter hohen zusammenhängenden Kolonie bedeckt. Nach 3 Wochen fand sich nur selten eine einzelne Spore oder ein Sporangium. In der Hauptsache waren Doppel- und Einzelstäbchen vorhanden, weniger mehrstäbige, aber nicht über 8-stäbige Fäden. Fettspeicherung sah ich kaum in Spuren. Kartoffelscheibe. Das äußere Wachstum und das Aussehen der Kolonie war dem auf der Möhrenscheibe ganz gleich. Doch zeigten die Ruhestäbchen starke Fettspeicherung.

Entwickelungsgang in Nährlösungen. B. megatherium keimt in N.L. II und Vα; in N.L. II nach 24 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen, neben 4—6 stäbigen, unregelmäßig septierten Fäden mit kleinen Fetttröpfchen. Die Stäbchen von normaler Breite mit starker Membran. Nach 3 Tagen nur Einzel- und Doppelstäbchen mit dicken Fetttropfen und zum Teil angeschwollen. Auch nach 14 Tagen keine Sporangien, hingegen Involutionsformen. In N.L. Vα nach 24 Stunden wie in N.L. II. Nach 3 Tagen hauptsächlich Doppelstäbchen, seltener Einzelstäbchen und 3—6 stäbige Fäden mit Fetttropfen. Nach 4 Tagen hauptsächlich 4—12 stäbige Fäden mit beginnender Sporenbildung. Die Stäbchen nicht so dick, wie in N.L. II. Nach 5 Tagen einzelne Keimstäbchen noch mit anhängender Sporenmembran. Nach 4 Wochen zum Teil bis 20- und mehr lange Fäden, bisweilen unseptiert, ohne Fett und mit wenig Protoplasma.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. Nach vierwöchentlicher Entwickelung bei 28° N.L. 0.: Lösung klar. Auf dem Boden wolkiger Belag, der sich beim Schütteln in dicken bräunlichen Wolken erhebt. Vorherrschend Einzelstäbchen. Säurebildung. I: wie vorige. II: Lösung klar. Auf dem Boden dicht zusammengeballter, brauner Niederschlag. Dicke Stäbchen und einzelne mehrstäbige Fäden. Säurebildung. III: Lösung klar. Auf dem Boden weißlicher, sedimentartiger Niederschlag, der in Wolken aufsteigt. IV: Schwache Entwickelung. Vα: s. unter Entwickelungsgang. IX: Die Lösung ist leicht getrübt. Saure Reaktion. In V, Vβ—δ, VI, VII, VIII, X keine Entwickelung.

Intensitäts-Tabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	3	1—2	0—1	0	4	0	0	0	0	0	0	2	0	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm Nährlösung Vα = 0,1 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. 1) Nach 8 Tagen Entwickelung bei 28° 10 ccm = 6,8 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) Nach 14 Tagen Entwickelung 10 ccm = 6,9 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 3) Nach 4 wöchentlicher Entwickelung 10 ccm = 5,5 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. Säure in N.L. IX. Indikator: Rosolsäure. Entwickelung in N.L. IX: 1) nach 14 Tagen 10 ccm = 0,65 $^1/_{10}$ N.Alkalilauge. 2) Nach 4 Wochen 10 ccm = 0,75 $^1/_{10}$ N.Alk.L.

Reservestoffe: Fett. Diastasebildung findet in N.L. Vα statt. Gasbildung fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 15'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 40—45'.

Wichtigste Merkmale der Species „B. megatherium“.

Sporen: Sporengröße 1,4—2,1 μ lang, 0,7—1,1 μ breit. Sporenform: Fig. Ia 1—11. Sporenmembran gleichmäßig dick und bei älterem Material in Exine und Intine ungefärbt und mit Fuchsin 1 + 10 zu unterscheiden. Starke Anschwellung der Sporen vor der Keimung. Diese erfolgt polar, entweder unter Durchstoßung eines Poles oder unter einseitigem Zerreißen der Membran im Aequator (Fig. Ib 1—6). Die Keimstäbchen: (Fig. Ib

1—6) sind bis über 1-lang und 1—1,5 μ breit. Auf Dextroseagar nach 6—7 Stunden bei 28° 2—3-stäbige Fäden, deren Stäbe 1-lang und 1—4-zellig sind (Fig. 1c 1—3). Nach 10—12 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen 1- bis $^1/_2$-lang, auch bis 8-stäbige 2-zellige Fäden mit sehr kurzen Septen. Die Stäbchen und Zellen häufig angeschwollen mit viel Fett (Fig. I d 1, 7). Nach 18—20 Stunden Sporenbildung vorherrschend in Doppelstäbchen und 4-stäbigen Fäden (Fig. I d 3—5). Diese meist gekrümmt und charakteristisch ungleichartig in der Länge der Zellen und Stäbchen in den Fäden (Fig. I d 1, 7) bei einer Breite von 1,6—2 μ. Nach 20—30 Stunden freiliegende Sporen, Sporangien un Ruhestäbchen, die Fäden meist 4- und 8-stäbig. Die Sporen endständig. Bewegung ist während der Gesamtentwickelung nicht vorhanden. Die Geißelfärbung gelang nicht (Fig. I d 8). Die Intensität des Wuchses in N.L. Vα = 4, IX = 2, IV und III = 1—2 ist charakterstisch. Die Agarstrichkultur ist nach 24 Stunden grauweiß, glatt, mattglänzend. Nach 3 Tagen wird sie bisweilen schwach rosarot und beginnt den Agar zu bräunen. Alte Kulturen sehen gelbrötlich, schleimig aus. Die Möhrenkultur bedeckt nach 8 Tagen in dicker grauweißer Schicht die ganze Scheibe und besteht fast nur aus Stäbchen und Fäden ohne Sporenbildung und mit geringer Fettspeicherung. Die Kartoffelkultur ist in Aussehen und Wachstum dem auf der Möhre gleich. Die Fettspeicherung ist stark. Diastase und Alkalibildung sind in N.L. Vα vorhanden. Säurebildung in 0—II und IX. Reservestoffe: Fett. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 15′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 40—45′.

Bacillus robur. A.M. et Neide.

Möglicherweise synonym: B. cursor (Burchard, Beitr. z. Morph. u. Entwickl.-Gesch. d. Bakt. In-Diss. 1887. (Arbeit aus d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe. Bd. II. 1898. Heft 1. p. 25). — B. cereus Frankland (Grace and Percy Frankland, Philosoph. Transact. of the R. Society of London. Vol. CLXXVIII. 1887. B. p. 279). — Gottheil setzt B. cursor und B. cereus möglicherweise synonym dem B. Ellenbachensis.

Diese Species wurde zuerst zwei Mal aus dem modernden Holz von Eichen aus hiesiger Gegend und aus der Neumark, später häufig aus moderndem Waldboden isoliert.

Die Sporen. Die Form der Sporen ist im allgemeinen ovoid mit meist konvexen Polen. Einige zeigen am Uebergang vom Pol zu den Seitenflächen fast rechtwinkelige, abgerundete Ecken. Auch sind sie mitunter von großer Breite. Eine Ausnahme Fig. IIa 8. Selten ist ein oder das andere Ende schwach zugespitzt und zwar gewöhnlich nur bei Anwendung von Farbstoffen. Auch annähernd cylindrische Formen kommen vor. Ihre Pole sind in der Regel flacher als diejenigen der ovoiden Sporen (Fig. IIa 1—10). Fast runde Sporen bilden sich bisweilen in Fadensporangien (Fig. IIa 11). Die Membran ist gleichmäßig stark. Exine und Intine wurden am

deutlichsten mit Fuchsin und Safranin unterscheidbar. Die Intine ist schmal. Der Querschnitt ist rundlich mit mehr oder weniger starken Abflachungen (Fig. IIa 13). Größe der Sporen: Die normalen ovoiden Sporen sind ca. 1,8 μ lang und 1,1 μ breit, die kleinsten 1,4:0,8 μ, die größten 2,1:1,3 μ. Die cylindrischen normal 1,8:0,8 μ, die kleinsten 1,5:0,8 μ, die größten 2,4:1,2 μ. Unter den rundlichen Sporen kommen Verhältnisse von 1,4:1,3 μ vor. Die Keimung erfolgt nach 5—6 Stunden. Die Sporen schwellen stark an, bis 1,6 μ Breite und bis 3 μ Länge (Fig. IIa 12). Die Keimung ist ausschließlich eine polare. Ein Polende wird durchstoßen, wobei es auch vorkommen kann, daß die Membran seitlich des Pols, aber nicht äquatorial aufreißt (Fig. IIa 1—3). Ueber 4 Wochen alten Sporen sitzen mitunter die Ueberreste der Sporangienmembranen noch auf (Fig. IIa 4). Die Keimstäbchen (1-lang = 4,5 μ) werden fast bis 2-lang, bei einer Breite von 1,5 μ, ausnahmsweise von 1,8 μ, doch entsteht in ihnen, wenn sie 8 μ lang werden, schon eine Septe (Chlorzinkjod). Die Sporenmembrane haften den Keimstäbchen ziemlich lange an, so daß sich 4-stäbige Fäden mit fast 2-langen Stäbchen noch mit Sporenmembran behaftet fanden. Die Membran ist mittelstark. Der Zellinhalt ist gleich von der Keimung an nicht mehr homogen (Zellsaftvakuolen) (Fig. IIb 2.)

Entwickelungsgang auf Dextroseagar.

Nach 14 Stunden sind vorzugsweise 1- bis 2-lange, 1- und 2-zellige Doppel- und Einzelstäbchen ausgebildet. Auch kamen vereinzelte Fäden bis 8-stäbig, seltener 14-stäbig vor (Fig. IIc 1—4). Die Membran erscheint jetzt breiter als an den Keimstäbchen und hat eine schleimige Beschaffenheit. Die Pole der Zellen sind gewöhnlich abgeflacht mit abgerundeten Ecken, weniger konvex. Zwischen den Zellen bildeten sich stellenweise durch Verschleimung der Zwischenmembran größere Abstände. Nach Färbung mit Fuchsin oder Methylenblau sah ich in einigen Fäden die Endmembranen der einzelnen, aneinanderstoßenden Stäbchen leicht konvex und entsprechend konkav gebogen. In der Mitte hob sich dann eine feine rote oder blaue Zwischenlinie ab (Fig. IIc 1). Bei den im Wachstum zurückgebliebenen oder erst später ausgekeimten Stäbchen war der Protoplast noch relativ homogen und zeigte nur Zellsaftvakuolen. Die normal entwickelten Oidien lassen ungefärbt jetzt Fetttröpfchen oder bei hoher Einstellung auch Volutanskugeln und Glykogenflecken erkennen. Mit Methylenblau 1 + 10 treten die Kugeln bis zu ansehnlicher Größe auf. Wendet man Jodjodkalium s zum Nachweis des Glykogen an, so werden Fett- und Volutanskugeln verdeckt und es treten in diesem Wachstumsstadium große rotbraune Flecken und Bänder von Glykogen hervor. Im Kondenswasser befanden sich Einzel- und Doppelstäbchen mit Glykogen, aber noch ohne Fettbildung.

Nach 18—24 Stunden besteht die Kolonie meistens aus Einzel- und Doppelstäbchen und 4-stäbigen Fäden. Die Stäbchen sind 1-, seltener bis 2-lang und 1—2-zellig. Die 4-stäbigen Fäden

haben, der Zahl nach, gegen die vorige Periode zugenommen, weniger die 8—10-stäbigen. Doch kamen auch vereinzelt bis 20-stäbige Fäden vor. Stäbchen und Zellen zeigen Anschwellungen bis 2,2 μ Breite und haben teilweise stark Fett entwickelt. Einzelne Zellen sind vollständig damit angefüllt. Die Fettkugeln nehmen durch Jodjodkalium meist eine schöne Orangefarbe an, die sich nach dem Rande zu in ein tiefes Rot umsetzt. Charakteristisch ist für diese und die folgenden Wachstumsstadien das Auftreten eigentümlich gestalteter Involutionsformen (Fig. II d 3 und 4) mit Glykogen und zahlreichen Fett- und Volutanskugeln. Außer den gezeichneten Involutionsformen kommen auch flaschen-keulenförmige und weit ausgebauchte Formen vor. Sie erreichten eine Breite von 3 μ und enthielten deutliche Septierungen. Mitunter trifft man im mittleren Teile der Agarkultur eine Anhäufung von Fäden, die das Aussehen eines vielfach durch und übereinander geschlungenen Gewebes haben. Das Kondenswasser enthält Einzel- und Doppelstäbchen und bis 15-stäbige Fäden mit Glykogen, Fett und Volutin. Die 36—48-stündige Kolonie ist das Entwickelungsstadium der Sporangien. Hauptsächlich waren 4—10-stäbige Fäden, ausnahmsweise bis 20-stäbige Fäden, weniger Doppelstäbchen und nur selten Einzelstäbchen gebildet. Zellen und Stäbchen sind am Ende der Periode zahlreich mit Sporenanlagen versehen. Im oberen Drittel der Agarkultur fanden sich vorwiegend Doppelsporangien, weniger Einzel- und 4-stäbige Sporangien. Längere Fäden wurden hier nicht beobachtet. Die Sporen sind meist endständig. Auch in den Fädensporangien läßt sich die gleiche Lage in der ersten Zeit dieses Wachstumsstadiums beobachten. Im weiteren Wachstum der Fadenstäbchen treten jedoch oft noch Zwischenmembranen und in der so gebildeten neuen Zelle weitere Sporenbildung auf, so daß die Sporen dann in den meist kurzen Zellen mittelständig erscheinen (Fig. II e 3). Schräg zur Längsrichtung gestellte Sporen kommen nicht häufig vor. Mehrfach fanden sich Doppelsporangien, deren Sporen an den nebeneinander liegenden Polen der Stäbchen endständig waren (Fig. II e 4). Eine auch schon nach 24 Stunden sich bemerkbar machende, in dieser Wachstumsperiode auffallende Erscheinung sind zahlreiche große frei auftretende Fettkugeln. Die charakteristischen Involutionsformen finden sich jetzt häufiger und in größeren Abmessungen (Fig. II d 3, 4). Gegen Ende dieses Wachstumsstadiums sieht man die ersten freien Sporen. Die Entwickelung des B. robur vollzieht sich von Spore zu Spore, demnach in ca. 48 Stunden. Das klare Kondenswasser enthält Einzel- und Doppelstäbchen, hauptsächlich aber 4- bis 30-stäbige, 2-zellige Fäden, mit viel Fett und Volutanskugeln. Sie sind in der Entwickelung gegenüber der Agarkolonie zurück. Nach 3—4 und mehr Tagen finden sich auf Agar neben noch normalem Wachtum und Sporenbildung in erhöhtem Maße Degenerations- und Involutionsformen.

Die Beweglichkeit. Am beweglichsten auf Dextroseagar ist B. robur kurze Zeit nach der Keimung. In späterer Zeit läßt infolge der Fadenbildung die Bewegung nach und hört nach 20

Stunden fast ganz auf. Im Kondenswasser fanden sich noch bis 48 Stunden bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen. Hier und auf Agar beobachtete ich in der Zeit zwischen 14 und 20 Stunden auch bewegliche 3-lange unseptierte Fäden (Chlorzinkjod), von denen sich ein Endstäbchen abschnürte. Die Bewegung ist eine charakteristisch pendelnde mit weitem Ausschlag. Die Geißelfärbung gelingt leicht bei 2' langer Beizung und Färbung mit Säureviolett auf die Dauer von 3—4' ohne Erhitzung (Fig. II c, 5).

Agar ohne Dextrose. Die Entwickelung der Species ist schwächer. Die Koloniee war nach 8 Stunden kaum in winzigen durchsichtigen Pünktchen zu erkennen. Es hatten sich Einzel- und Doppelstäbchen, sowie 3—4-stäbige Fäden entwickelt. Nach 24 Stunden war die Koloniee auf der Oberfläche uneben, rauh, mit kleinen Vertiefungen und Runzeln. Es fanden sich sehr regelmäßig ausgebildete Sporangien, meist 4—8-stäbig und 2-zellig, auch 20- und mehrstäbige Fäden. Die Stäbchen rechteckig mit abgerundeten Ecken, die Sporen gleichmäßig ovoid, an den Polen mehr flach wie konvex. Die Fettspeicherung und die Anschwellung der Stäbchen war eine wesentlich geringere. Involutionsformen wurden nicht beobachtet (Fig. II f, 1, 2). Die Entwickelung von B. robur auf Agar ohne Dextrose ist mithin eine weit normalere und schnellere, als auf Agar mit Dextrosezusatz.

Agarstrichkultur. Nach 14 Stunden warenkleine, sandkornartige Kolonieen, teilweise glasig durchsichtig, die größeren grauweiß, entstanden. Nach 20 Stunden hatten sich die einzelnen grauweißen Kolonieen verschmolzen und einen fast völlig zusammenhängenden matt-weißen, wenig glänzenden, fein gekörnten Belag gebildet. Der Rand hatte feine, gegliederte Ausstrahlungen. Nach 48 Stunden sah die Kolonie weiß mattglänzend, grob gekörnt aus. An den Rändern waren fein und parallel gestrichelte kurze Härchen zu erkennen, der Belag war mit der Nadel leicht abnehmbar. Die 72-stündige Kolonie war weißlich, ins bräunliche schimmernd. Im unteren Teil entstanden runzelige, körnig-krause Beläge. Ganz alte Kulturen zeigten einen in das gelbliche übergehenden porzellanartigen Glanz.

Agarstich: Im Heyden-Agar zog sich nach 2 Tagen ein feiner nebeliger Faden bis zum Grunde des Glases. In den nächsten Tagen verbreiterte er sich allmählich und auf der Oberfläche traten kleine helle, weißliche Kolonieen auf. Nach 3 Wochen hatte sich die Kolonie über die ganze Oberfläche verbreitet und wuchs an den Glasrändern außen um den Agar nach unten. Im Stich sind die Kolonieen wie Reifkristalle aneinander gereiht und verbreiten sich am unteren Ende nebelartig. Nach 3 Monaten ist die ganze Breite des Agars bis zu einer Tiefe von 3 μ durchwachsen. Die Kolonie besteht aus meist 1-stäbigen Sporangien, deren Membran noch schwach zu erkennen ist, und aus großen Sporen. Gelatineplatte. Schon nach 2 Tagen (bei niedriger Zimmertemperatur nach 3—5 Tagen) sind leicht hingehauchte staubartige Pünktchen zu erkennen, die, mit der Lupe betrachtet, charakteristisch das Aus-

sehen von Reifkristallen haben. Mikroskopisch hatten sie wurzelartige Ausstrahlungen. Sie weichen von anderen in dieser Beziehung ähnlichen Bildungen mancher Species dadurch ab, daß neben kurzen, gekrümmten Ausläufern in der nächsten Umgebung sich gerade, exzentrisch verlaufende Fäden in die Gelatine erstrecken. Die Länge der Ausstrahlungen betrug das 10—40-fache der Breite der Kolonie. Dabei sind die Zentralkolonieen meist sehr klein, bei ganz jung entstehenden Kolonieen oft kaum sichtbar. Die Farbe der Kolonie ist hellgrau. Nach 3 Tagen wurde die Kolonie in ihrer charakteristischen Gestalt auch makroskopisch sichtbar. Nach 4 Tagen schwammen bei viel Material die Kolonieen in ihrer ursprünglichen Gestalt erhalten in der verflüssigten Gelatine. Bei weniger Material füllten sich die Zwischenräume der wurzelartigen Ausläufer aus und zeigten eine in sich geschlossene, mit pelzartig gestrichelten Härchen begrenzte Kolonie.

Gelatinestich: Vom Impfstich gingen nach 2 Tagen die vorhin auf der Gelatineplatte als charakteristisch geschilderten Kolonieen in gleicher Gestalt bis zum Grunde der Gelatinesäule. Am nächsten Tage zeigte sich das Bild des umgekehrten Tannenbaums, nur sind die seitlichen Ausläufer sehr fein und die unteren Kolonieen hatten die parallel gestrichelten zarten Härchen, wie sie an der Agarkultur als Begrenzung beschrieben sind. Die Verflüssigung der Gelatine betrug nach 8 Tagen 1 cm. Nach 4 Wochen war die Gelatine in ihrer vollen Höhe verflüssigt, ganz klar, mit festem, sedimentartigen, starken Niederschlage.

Kartoffelscheibe: Nach 3—4 Tagen war ein eigentümlich trockener, dünner, feinkörniger, ganz weißer Belag, einem weißen Schimmelpilz ähnlich, entstanden. Die Entwickelung der Stäbchen war nach 10 Tagen eine gute, mit Glykogen-, Volutin- und Fettansammlung. Vorwiegend bestand die Kolonie aus Einzel- und Doppelstäbchen mit Sporenanlagen und aus den charakteristischen Involutionsformen (Fig. II d, 3, 4). Die Fäden waren nicht über 8-stäbig. Volutanskugeln fanden sich nicht häufig, wohl eine Folge des weiter vorgeschrittenen Entwickelungszustandes. Nach 3—4 Wochen war die Scheibe fast völlig mit einer Kolonie bedeckt, welche ganz das Aussehen einer feinkörnigen Schimmelkultur hatte. Sie enthielt Einzel- und Doppelsporangien nebst Involutionsformen.
Möhrenscheibe: Auf diesem Nährsubstrat entwickelte sich die Species nicht. 3 Wochen nach der Beschickung mit Sporenmaterial war die Oberfläche unverändert feucht. Die ausgesäeten Sporen waren meist noch im ursprünglichen Zustand erhalten.

Entwickelungsgang in Nährlösungen:

B. robur keimt in N.L. I und IV. In N.L. I nach 24 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen in lebhafter Bewegung, nach 8 Tagen 2—4- und viele 8-stäbige Zellfäden, die Stäbchen 1-lang und normal breit. Vereinzelt bis 40-stäbige Fäden und die charakteristischen Involutionsformen (Fig. II d, 3, 4). Fast alle Zellen enthielten Glykogen, Fett, Volutin. Nach 4—5 Wochen noch keine Sporenanlagen. Die Stäbchen der Fäden bei viel Fettspeicherung häufig angeschwollen. In N.L. IV nach 4 Tagen Doppel- und Einzelstäbchen, 1-lang und nur 0,8—1,0 μ breit. Nach 10

Tagen 4—8-, vereinzelt bis 12-stäbige Fäden mit 1- bis 3-langen, wenig Fett enthaltenden Stäben. Nach 4 Wochen freie und noch von der Sporangienmembran umschlossene Sporen, hauptsächlich jedoch 4—6-stäbige, aber auch bis 20-lange, ungleichmäßig stäbige und septierte Fäden von 0,8—1,0 μ Breite, mit wenigen, kleinen Fetttropfen.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen: Das Wachstum ist in den Reagensröhrchen bei weitem weniger stark als in Kölbchen, was auf ein größeres Sauerstoffbedürfnis des B. robur hinweist. Das Wachstum ist nach 4 Wochen bei 28° folgendes: N.L. 0: Lösung klar mit hautartig festsitzendem Niederschlag, der beim Schütteln als weiß-bräunliche Wolke aufsteigt. Normale Einzel- und Doppelstäbchen und bis 10-stäbige Fäden. Die Stäbe mit vielen dicken Fetttropfen, selten einmal eine Sporenanlage. I: Lösung klar. Dicke weiße, an der Glaswand festsitzende Randkolonieen. Niederschlag wie bei 0. Beim Schütteln schwimmen in der Flüssigkeit dicke Flocken. Meist normale Doppelstäbchen und bis 17-stäbige 1- bis 2-lange, 1—2-zellige Fäden, mit mehr Glykogen und weniger Fetttropfen als bei 0. Mehrfach Involutionsformen (Fig. II d, 3, 4) und vielfache Anschwellungen der Stäbchen. Kein Sporenanlagen. II: Lösung klar. Oben eine dicke, hellbraune Kahmhaut, auf dem Boden dicker, brauner Niederschlag. Vorherrschend sehr lange, 30- und mehrstäbige 4- bis 6-zellige Fäden mit großen Fetttropfen. Keine Sporangien. IV: Bei klarer Lösung auf dem Boden weiße wolkige Schicht, die bei schwachem Schütteln zäh zusammenhängend emporsteigt, bei starkem Schütteln flockenartig zerfällt. Wachstum vgl. Entwickelungsgang. V: Lösung klar. Festsitzender, hautartiger, weißer Belag des Bodens. Hauptsächlich Fäden mit 2- bis 3-langen Stäbchen und ziemlich starker Fettspeicherung. Vα: Lösung klar. Niederschlag wie V. Auch hier Fäden mit starkem Fett und Volutanskugeln. Die Stäbchen nur 1-lang, meist 2-zellig, die Fäden 4—10-stäbig. VI: Lösung klar, mit kleinflockigem, weißem Niederschlag. Weniger Einzel- und Doppelstäbchen, hauptsächlich 4- bis 8-stäbige und bis 10-stäbige Fäden mit viel Fett. VII und IX: Nur schwache Entwickelung in einer kleinen, weißen, hautartigen Koloniee. Nicht sehr zahlreiche Fäden mit Involutionsformen der Stäbe (Fig. II d, 3, 4). X: Zeigte trotz dreimaligen Impfens anfänglich innerhalb 4 Wochen keine Entwickelung. Bei einem neuen Versuch fand in den ersten 14 Tagen gleichfalls nur ganz geringes Wachstum statt. Die nächsten 14 Tage wurde dasselbe mittelstark. In II, V β—δ, VIII, IX keine Entwickelung.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	4	0	2	3	4	0	0	0	2	1	0	—1	0—2	0

Hervorzuheben ist die äußerst eigentümliche Kahmhaut auf der Nährlösung Vα im Kölbchen. Sie ist stark wellig und runzelig, fast teppichartig fest, 1—2 mm dick und hat die Farbe der Nährlösung.

Alkalibildung erfolgt in N.L. IV, Vα, VI. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. N.L. Vα 10 ccm = 0,1 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Entwickelung bei 28° in N.L. Vα 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 4,6 ccm $^1/_{10}$ N.Schw., 2) nach 15 Tagen 10 ccm = 3,79 ccm $^1/_{10}$ N.Schw., 3) nach 4 Wochen = 3,01 ccm $^1/_{10}$ N.Schw.

Reservestoffe: Glykogen, Volutin, Fett. Ersteres hauptsächlich zwischen 14 und 18 Stunden der Entwickelung, später überwiegt Fett mehr und mehr. — Diastasebildung in N.L. Vα nicht vorhanden. Gasbildung fehlt. Die Gelatine wird rasch verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 38'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 35—45'.

Der im Waldboden gefundene Bacillus robur a.

Diese Varietät des B. robur, welche sehr häufig aus dem modernden Boden des Waldes von mir isoliert wurde, zeigte von

der in der Eiche gefundenen Species folgende Verschiedenheiten: 1) Die Sporenform ist vorwiegend mehr ovoid als bei B. robur, selten cylindrisch. 2) B. robur a wächst in N.L. VIII und in N.L. X reichlich und energisch. B. robur zeigt in VIII dauernd kein Wachstum, in X ist das Wachstum schwankend. 3) Die Keimung auf Dextroseagar tritt bei B. robur a nach 8–9 Stunden ein; B. robur keimt unter denselben Bedingungen nach 5 bis 6 Stunden. Die Involutionsformen des B. robur a zeigen geringere Größen. 4) Das Wachstum von B. robur a in Nährlösungen ist in Reagenzröhrchen durchgehend stärker als von B. robur. 5) Die Kolonie auf Agar ist von Beginn an weißer, nach 2 Tagen homogen porzellanweiß, aber zum Teil runzelig wie bei B. robur. 6) Im Agarstich bildete B. robur a schon nach 4 Tagen eine bis auf den Boden reichende, ungewöhnlich starke, buschartige Kolonie. 7) Im Allgemeinen zeigte B. robur a ein kräftigeres, intensiveres Wachstum auf allen Nährsubstraten.

Die Beziehungen des Bacillus robur zu Bacillus Ellenbachensis und Bacillus mycoides.

Morphologisch und biologisch zeigt B. robur mit den beiden genannten Bacillen mehrere Aehnlichkeiten, die bei oberflächlicher Untersuchung leicht zu Verwechselungen Anlaß geben können. Die Aehnlichkeit erstreckt sich auf die Sporenform, auf den Entwickelungsgang auf Dextroseagar und die Fettbildung.

I. B. robur unterscheidet sich von B. Ellenbachensis

1) durch die durchschnittlich größere Breite der Sporen 1,1 μ : 0,83 μ und der Keimstäbchen 1,5 μ : 1,1 μ. 2) B. robur zeigt von 24-stündiger Entwickelung an auf Dextroseagar charakteristische Involutionsformen, welche dem B. Ellenbachensis fehlen. 3) B. robur wächst gut in den Nährlösungen IV, V, Vα, VI und teilweise in X, in denen B. Ellenbachensis gar nicht oder nur sehr schwach gedeiht. Er wächst nicht in N.L. III, in welcher B. Ellenbachensis mittleres Wachstum zeigt. 4) B. robur bildet auf Dextroseagar und in Nährlösungen Glykogen, B. Ellenbachensis nicht.

II. B. robur unterscheidet sich von B. mycoides zuerst durch die für B. ellenbachensis unter 1—4 angegebenen Punkte, sodann wesentlich dadurch, daß B. mycoides kein Volutin bildet.

Die wichtigsten Merkmale der Species Bacillus robur A. M. et Neide.

Spore: Sporengröße 0,8—1,3 μ breit, 1,4—2,1 μ lang. Sporenform: normal: Fig. II a 1—7, selten: Fig. II a 8—11. Die Sporenmembran ist ungefärbt sichtbar und in Ex- und Intine zu unterscheiden. Erstere ist gleichmäßig stark, letztere schmal. Fuchsin und Safranin färben und differenzieren am besten. Die Sporen schwellen vor der Keimung stark an (Fig. II a 12). Die Keimung erfolgt ausschließlich polarer oder etwas seitlicher Zerreißung der Sporenmembran polar mit

(Fig. IIb 1—4). Die Keimstäbchen werden bis 8 μ lang, bis 1,8 μ breit. Die Sporangienmembran haftet zuweilen noch 4-stäbigen Fäden an dem Pole eines Endstäbchens an. Auf Agar nach 14 Stunden 1- und 2-zellige Einzel- und Doppelstäbchen, vereinzelt 8-stäbige Fäden. Die Stäbchen mit viel Glykogen, weniger Fett und zahlreichen großen Volutanskugeln. Nach 18—24 Stunden außer Doppel- und Einzelstäbchen 4- bis 10-stäbige Fäden mit je 2-zelligen und meist $^1/_2$- bis 1-langen Stäben bei starker Fettspeicherung, wenig Glykogen und kleineren Volutanskugeln. Charakteristische Involutionsformen Fig. IId 3, 4. Viele Stäbchen werden bis 2,2 μ breit. Zwischen 36 und 48 Stunden Sporenbildung bis zu vollständiger Ausreifung und freiem Auftreten der Sporen. Letztere mehr end- als mittelständig. Normale Sporangien: Fig. IIe 1, seltene: Fig. IIe 3. An den bis ca. 20 Stunden auf Dextroseagar beweglichen Stäbchen peritriche Begeißelung (Fig. IIc 5). Schwärmzustand im Kondenswasser noch nach 48 Stunden. Die Intensität des Wuchses in den N.L. IV und Vα = 2—4, Vβ—δ = 0, X = 0—2 ist charakteristisch.

Agarstich-Kultur: Nach 20 Stunden bei viel aufgetragenem Sporenmaterial völlig zusammenhängender, mattweißer, wenig glänzender, feinkörniger, mit der Nadel leicht abnehmbarer Belag. Das Kondenswasser bleibt klar. Spätere, 3—4 Tage alte Kulturen werden im oberen Teile braungelb, im unteren kraus, körnig runzlig, später wieder weiß, homogen glatt und glänzend. Möhrenkultur: Keine Entwickelung. Kartoffelscheibe: Nach 3—4 Wochen eine trockene, weiße, pilzähnliche Kolonie über die ganze Scheibe mit Einzel- und Doppelsporangien, sowie Involutionsformen. Alkalibildung in Nährlösung IV, Vα und VI. Reservestoffe: Glykogen, Volutin, Fett. Gelatine wird rasch verflüssigt. Diastasebildung in N.L. Vα nicht vorhanden. Gasbildung: fehlt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 38'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol: bei 28' 35—45'.

Bacillus silvaticus A. M. et Neide.

Möglicherweise synonym: B. Hessii (Guillebeau) Kruse (Flügge, Mikroorganismen. 1896. Bd. II. p. 210.

Dieser Bacillus wurde aus dem Waldboden eines mehrere Jahre brach gelegenen Holzschlages von Tannenhochwald im Thüringer Walde isoliert. Die Bodenprobe war 10 cm unter der Oberfläche genommen. In anderen Waldbodenproben ist er von mir nicht wieder gefunden.

Die Sporen. Die normale Sporenform ist oval (Fig. IIIa 1, 2, 3, 4). Fast ebenso häufig ist die Form cylindrisch-stäbchenförmig, mit abgeflachten, nur wenig konvexen Polen (Fig. IIIa 5—7). Es kommen jedoch auch fast zugespitzte Polenden vor (Fig. IIIa 8, 9). Unter den ovalen Formen sind einseitige Abflachungen nicht selten. Diese Abflachungen werden besonders in den Sporangien der Fäden öfters nach der Innenseite eingebogen, so daß die Sporen die Ge-

stalt von Bohnen erhalten. Abweichende Formen gibt Fig. IIIa 10—16. Die Membran der Sporen ist ringsum gleichmäßig, mittelstark. Extine und Intine lassen sich bei großen Exemplaren bisweilen schon in ungefärbtem Zustande unterscheiden. Methylenblau läßt die Intine weniger scharf hervortreten als Fuchsin, Safranin und Jodjodkalium s differenziert schärfer. Nach längerer Einwirkung des Jodjodkalium verliert die Exine ihre regelmäßige Form und wird wellig kraus. Nach Gram gefärbt, ist die Exine ziemlich stark, die Intine von gleicher Breite, mitunter etwas breiter. Der Protoplast hebt sich deutlich gegen die Intine ab. Größe der Sporen. Die ovalen Formen sind normal 1,7 μ lang, 1,1 μ breit; die kleinsten 1,5 μ : 1,1 μ, die größten 1,9 μ : 1,2 μ. Die cylindrischen Formen der Sporen haben normal eine Länge von 1,75 μ, eine Breite von 0,8 μ; die kleinsten von 1,3 : 0,6 μ, die größten von 2,7 μ zu 1 μ. Die bohnenförmig gestalteten Sporen sind im Durchschnitt 1,8 μ lang, 0,8 μ breit; die schmalsten 2,6 μ lang und 0,6 μ breit. Ausnahmsweise wurde eine Spore von 2,8 μ : 1,2 μ gemessen.

Die Keimung. Bei 1' abgekochtem Sporenmaterial beginnt die Keimung auf Dextroseagar bei 28° schon 2—2½ Stunden. Die Sporen schwellen vorher stark an, und zwar mehr in die Breite als in die Länge. Sie werden bis 2,8 μ lang und 2,1 μ breit (Fig. IIIa 17), Die Keimung ist fast ausschließlich äquatorial. Die Sporenmembran reißt einseitig auf (Fig. IIIb 1, 2). Die losgesprengte Hälfte der Sporenmembran hängt oft der Kuppe des Keimstäbchens an (Fig. IIIb 3). Zum Heraustreten aus der Sporenmembran macht das Stäbchen häufig noch eine Drehung (Fig. IIIb 4). Mitunter krümmt sich das Stäbchen auch in der Sporenmembran (Fig. IIIb 6) und behält diese Krümmung im weiteren Wachstum bei (Fig. IIIb 5). Die polare Keimung kam nur vereinzelt vor (Fig. IIIb 7). Die Sporenmembran haftet dem Pol des Keimstäbchens relativ lange Zeit an. Sie wurde noch gefunden an 4-stäbigen Fäden, mit je 1-langen, 1—2-zelligen Stäben. Kochte ich das Sporenmaterial nur kürzere Zeit als 1' ab, so wurde auffallenderweise die Sporenmembran von den Keimstäbchen bald abgeworfen.

Die Keimstäbchen. (1-lang = 3,25 μ). Die Keimstäbchen werden nicht ganz 2-lang und 1,2—1,6 μ breit. Der ungefärbte ist Protoplast, nicht homogen (Zellsaftvakuolen) und verschieden stark gekörnt (Fettkugeln). Methylenblau 1 + 10 und Fuchsin färben den Protoplasten noch gleichmäßig. Die Membran ist mittelstark.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. Nach 5 bis 6 Stunden sind vorherrschend 2—6-stäbige Fäden gebildet, 1- bis 2-lang und 1- und 2-zellig. Daneben finden sich auch viele Einzel- und Doppelstäbchen, gleich lang wie in den Fäden, aber weniger septiert (Fig. IIIc 1 und 2). Nach 8—9 Stunden besteht die Kolonie aus Doppelstäbchen 1- bis 2-lang, 1—3-zellig und 1,5 bis 1,9 μ breit. Die Fettkugeln treten stärker hervor, werden aber mit Methylenblau 1 + 10 und Fuchsin noch verdeckt. Nur wenige

Stäbchen waren ganz gerade, die meisten etwas gebogen (Fig. IIId 1—3). Nach 14 Stunden besteht die Kolonie hauptsächlich aus Einzel- und Doppelstäbchen, demnächst aus 3—4-stäbigen Fäden, deren Stäbe meist 1-zellig, ungefähr 1-lang und 1,2 bis 1,9 μ breit sind (Fig. IIIe 1 und 3). Vielfach sind die Stäbchen plump, dick, an den Polen stark konvex bis schwach spitz mit sehr starker rundkörniger Fettspeicherung, mitunter schon mit beginnenden Sporenanlagen (Jodjodkalium s). Unter den Einzelstäbchen sind häufig eigenartig keilförmig gestaltete Stäbchen (Fig. IIIe 2), ca. 1-lang, am dicken Ende 1,8 μ, am dünnen 1,2 μ breit. Die Membran wird schleimiger. Im Kondenswasser waren die Stäbchen weniger weit entwickelt. Nach 20 Stunden: Meist finden sich Doppelstäbchen, daneben aber auch sehr viel Einzelstäbchen, die vorwiegend mit Sporenanlagen versehen sind, außerdem 4—6-stäbige Fäden ohne und mit Sporenanlagen (Fig. IIIf 1—5). Die Sporen sind in den normalen Sporangien endständig. Vielfach treten jetzt anormale Anschwellungen auf (Fig. IIIf 6—8). In den 4- und mehrstäbigen Fäden sind die Stäbchen teils eiförmig, teils kugelig gestaltet. Auch zeigen sich Doppelstäbchen mit 3—4 sehr breiten Septen (Chlorzinkjod) (Fig. IIIf 9), deren Teilstücke breiter als lang sind. Die Länge der Sporangien der Einzel- und Doppelstäbchen beträgt 3—3,5 μ, die Breite 1,4 bis 1,9 μ. Die weitaus größte Zahl der Einzelsporangien zeigte die schon besprochene Keilform. Es ist viel Fett gespeichert. Schon nach 20 Stunden finden sich freiliegende Sporen, so daß der Entwickelungsgang des B. silvaticus von Spore zu Spore im allgemeinen nach 20—25 Stunden abgeschlossen ist. Nach 30 bis 40 Stunden zeigen sich neben sehr vielen freiliegenden Sporen zahlreiche Sporangien, anormale, involutionsartige Formen (Fig. IIIg 1—3). Ganz vorherrschend sind charakteristische, starke Zuspitzungen eines Stäbchens der Doppelstäbchen oder eines Endstäbchens der meist 6-stäbigen Fäden. Die Fäden haben vielfach starke Krümmungen und ihre Stäbchen eine sehr mannigfache Gestalt bei sehr reichlicher Fettspeicherung (Fig. IIIg 4). Die normalen Sporen sind endständig, während sie in den Fadenstäbchen die verschiedensten Lagen einnehmen (Fig. IIIg 1—3). Das Kondenswasser enthielt in dieser Entwickelungsperiode fast ausschließlich Doppel- und Einzelstäbchen mit wenig Sporenanlagen und viel Fett.

Die Beweglichkeit. Der Schwärmzustand der Oidien beginnt etwa 8 Stunden nach der Aussaat auf Agar, ist am lebhaftesten nach ca. 14 Stunden und dauert bis zur Sporangienbildung. Im Kondenswasser befinden sich noch nach 48 Stunden bewegliche Stäbchen. Die keilförmig gestalteten Einzeloidien wurden nicht in Bewegung beobachtet. Die Art der Bewegung ist zur Zeit der größten Beweglichkeit im Vergleich mit anderen Species eine eigenartige. Im allgemeinen ist sie bei Einzel- und Doppelstäbchen eine pendelnde. Dazwischen drehen sich aber zahlreiche Individuen plötzlich an einer Stelle anhaltend, horizontal oder auch vertikal um ihre Querachse, um dann in einer Richtung vor oder rückwärts

zu gehen. Die Begeißelung ist peritrich und zeichnet sich durch relativ lange und zahlreiche Geißeln aus (Fig. III e 4).

Zur Geißelfärbung war eine 3' lange Behandlung mit Beize und eine 5' dauernde Säureviolettbehandlung nach der Erwärmung bis zum Dampfaufsteigen erforderlich.

Agar ohne Dextrose. Bei der Entwickelung auf Agar ohne Dextrose zeigten die Morphoden ein wesentlich abweichendes Aussehen gegenüber dem Wachstum auf Agar mit Dextrose. Nach ca. 20 Stunden fanden sich hauptsächlich Einzel- und Doppelsporangien, weniger 3—6-stäbige Fäden mit Sporenanlagen in allen Stufen der Entwickelung, bis zur völlig ausgereiften Spore. In der Form zeigten sich die Sporangien fast durchgehends normal (Fig. III h 1, 2). Nur wenige Einzelsporangien ließen die Neigung erkennen, die auf Dextroseagar so häufige Keilform zu bilden (Fig. III h 3). In den noch sporenfreien Stäbchen ist nur wenig Fett gebildet. Die Membran erschien dünn. Die Breite der Sporangien betrug 1,2—1,5 μ gegen 1,4—1,9 μ auf Dextroseagar. In der Länge war kein Unterschied.

Agarstrich: Nach 8—9 Stunden ist ein durchsichtiger, glasig glänzender, graugelber Belag von der Farbe des Agars erkennbar. Nach 14 Stunden wird der Belag weißgelblich mit durchscheinendem aber dickem, scharf absetzenden Rand. Nach ca. 30 Stunden war die Agarkolonie sehr weich, schleimig, mehr gelbbräunlich. Das Kondenswasser blieb klar mit hellbräunlichem Niederschlag. Der Agar beginnt sich im oberen Teil rotbraun zu färben. Nach 3—4 Tagen wird die glänzend schleimige Kolonie deutlich rotbraun, der Agar dunkel rotbraun. 14 Tage alte Kulturen haben in Kolonie und Agar ein tief schwarzbraunes Aussehen.

Agarstich: Im Heyden-Agar war nach 2 Tagen eine mehr schleierartige als körnige Kolonieenreihe entwickelt, auf der Oberfläche eine kleine, weißlichgraue, glänzende, sich vom Agar wenig abhebende Kolonie. Nach 6 Tagen waren die Kolonieen im Stich eher wolkenartig als trichterförmig gewachsen. Nach 4 Wochen hatte die Oberflächenkolonie nur eine geringe Größe und ein ungleichmäßiges glasiges Aussehen. Die Kolonieen im Stich hatten sich nicht exzentrisch, sondern in einer Ebene streifenartig verbreitert. Der Agar war von oben bis zu einer Tiefe von 3 cm allmählich im Farbenton abgeschwächt rauchschwarz geworden. Nach 3 Monaten hatten auch die Kolonieen im Stich eine braune Farbe angenommen, welche bis 5 cm tief allmählich heller wurde. Nach den Seiten zeigte sie feine, haarartige, weit in den Agar hineinreichende Verzweigungen.

Gelatineplatte: Nach 2 Tagen, bei niedriger Temperatur nach 4 Tagen, werden makroskopisch feine weißliche Punkte sichtbar. Mikroskopisch erscheinen die höher liegenden Kolonieen rund, braunschwarz, mit gekörntem Rand, der sich nicht glatt absetzt. Nach 7 Tagen zeigten die oberen, nunmehr kräftig über die Oberfläche hervorragenden Kolonieen makroskopisch ein stark glänzendes, schmutzig hellgelbes Aussehen. Ihre Form ist rund

oder oval. Die tiefer liegenden Kolonieen erscheinen mikroskopisch dunkelgrau, am Rande nicht glatt, sondern abwechselnd gekörnt und mit stoppelartig, unregelmäßig stehenden ganz kurzen Haaren besetzt. Nach 11 Tagen war mikroskopisch die schwarzbraune Farbe der oberen Kolonieen noch erhalten. Am Rande waren sie etwas heller, als Zeichen der beginnenden Verflüssigung. Sie hatten eine grobgekörnte und mit kurzen durcheinander geworfenen Strichen begrenzte Umrandung. Allmähliche Verflüssigung trat erst nach ca. 3 Wochen ein. Gelatinestich: Im Stich zeigten sich nach 3 Tagen staubförmige Kolonieen. Nach 6 Tagen war auf der Oberfläche eine dicht aufgelagerte Kolonie entstanden, die ohne Verflüssigung zu zeigen, sackartig in die Gelatine hineinwuchs. Nach 15 Tagen waren die unteren Kolonieen nicht viel weiter entwickelt, während die an der Oberfläche gelegenen mehr in die Gelatine hineinwuchsen, ohne daß äußerlich Verflüssigung zu beobachten war. Nach 4 Wochen bemerkte man eine schlauchförmige 3 cm hohe Verflüssigung, die sich nach weiteren 14 Tagen bis zur Glaswand verbreitet und einen braungelben flockigen Niederschlag zeigte. Kartoffelscheibe: Nach 3 Tagen hatten sich einige große, gelbgrau-schleimige Kolonieen entwickelt. Nach 3 Wochen war die ganze Scheibe mit einem gleichmäßig gelbgrauen, käsigen, zähigen Belag bedeckt, der sich bis über den Boden der Petrischalen fortpflanzte. Die Kolonie bestand vornehmlich aus Einzelsporangien, Doppelstäbchen mit und ohne Sporenanlagen, seltener aus 4—6-stäbigen Fäden, von der bei der Agarkultur beschriebenen Form (Fig. IIIf 3—5). Auch haben die Einzel- und Doppelstäbchen die Neigung, keulen- bezw. speerartige Formen zu bilden. Vereinzelt fanden sich freie Sporen mit Resten der Sporangienmembran versehen. Möhrenscheibe: Kein Wachstum trotz mehrmaligen Impfens.

Entwickelungsgang in Nährlösungen.

Die Sporen des B. silvaticus keimen in N.L. II und IV. N.L. II: Nach 24 Stunden fanden sich Einzel- und Doppelstäbchen, nach 4 Tagen neben septierten Einzel- und Doppelstäbchen 4—10-stäbige Fäden, die nur wenig Fettspeicherung zeigten. Nach 14 Tagen vereinzelte Sporenanlagen. N.L. IV: Nach 24 Stunden waren 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen gebildet, nach 4 Tagen auch 3—4-stäbige Fäden. Nach 14 Tagen besaßen die Stäbchen starke Fettansammlung und vereinzelte Sporenanlagen.

Wachstum in verschiedenen Nährlösungen nach 4 wöchentlicher Entwickelung bei 28°: N.L. 0. Lösung klar. Am Boden festsitzender, scheinbar angetrockneter Niederschlag, der beim Schütteln in kleinen Blättchen sich abhebt. 2—4-stäbige, 2-zellige Fäden, viele Involutionsformen, wenig Fett, schwach alkalisch. I: wie vorher. Unter den Einzel- und Doppelstäbchen waren einzelne auch 3—4-zellig. Wenig Fett. II: Lösung klar. Am Rande schwacher Belag der Glaswand. Unten wolkiger Niederschlag, der beim Schütteln in dichtem Schleier sich erhebt. Es entstanden dabei lange sich erhaltende Bläschen. IV: Schwach getrübt; am Boden fester, hellbrauner Belag, der sich bei starkem Schütteln emporhebt und die Lösung stärker trübt. Die Stäbchen vgl. Entwickelungsgang Alkali. V: Lösung klar, am Boden dichter, sedimentartiger Belag, der sich beim Schütteln zunächst wolkig erhebt, dann ganz auflöst. Kurze Einzel- und Doppelstäbchen 1—2-zellig, auch 3-lange 2-zellige Stäbchen mit Fett. Vα: Lösung klar. Dicker, wolkiger, bräunlicher Niederschlag. Vorherrschend je 1-lange Doppelstäbchen, auch Einzelstäbchen mitunter bis 2-lang.

Viel Fett. Vβ: Lösung klar. Ganz weißer wolkiger Niederschlag. Beim Schütteln erheben sich kleine Flöckchen. 4—30-stäbige Fäden, neben Einzel- und Doppelstäbchen. Die Stäbchen der Fäden sind vielfach kugelig, die Einzelstäbchen mehrfach keulenförmig gestaltet. Schwach Alkali. Vγ: Lösung getrübt; fast kein Niederschlag. Viel Einzelstäbchen, demnächst Doppelstäbchen und 4—10-zellige Fäden mit Fett. Die Endstäbchen sind zum Teil zugespitzt. Schwach Alkali. Vδ: Lösung klar. Am Rande der Flüssigkeit dicker Belag. Niederschlag beim Schütteln in dichten Wolken aufsteigend. Normale Einzel- und Doppelstäbchen, letztere mit breiter Zwischenmembran. Viele 4—20-stäbige Fäden mit sehr dicken involutionsförmig angeschwollenen Stäbchen und sehr großen Fettkugeln. Alkali. VI: Lösung klar, an der Glaswandung Flöckchen abgesetzt, ebenso auf der Oberfläche dünner, lose sitzender Rand. Dicker, bräunlich weißer Niederschlag. Neben fast normalen Einzel- und Doppelstäbchen, die nicht sehr zahlreich, viele gekrümmte bis 40- und mehrstäbige Fäden, deren Stäbe sehr dicke Involutionsformen mit starker Fettspeicherung zeigen (Fig. III i). VII: Klare Lösung; hautartiger Niederschlag, der beim Schütteln in großen zusammenhängenden Stücken aufsteigt. Viele normale Einzelstäbchen, neben 4—10-stäbigen Fäden, mit teilweise starken Involutionsformen. Im Gegensatz zu VI zeigen sie die Neigung, sich zuzuspitzen. In III, VIII, IX, X und XI kein Wachstum.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	4	3	0	3	3	4	3	3	2	3—4	2	0	0	0	0

Alkalibildung in NL. IV. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. Nährlösung IV 10 ccm = 0,6 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Nach Entwickelung bei 28° in N.L. IV. 1) Nach 8 Tagen 10 ccm = 7,88 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) Nach 15 Tagen 10 ccm = 5,71 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 3) Nach 4 Wochen 10 ccm = 4,95 ccm $^1/_{10}$ N.Schw.

Reservestoffe: Fett, kein Volutin. Distasebildung: In N.L. IV. Gasbildung: findet nicht statt. Gelatine: wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 20'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 40—45'.

Beziehungen des B. silvaticus zum B. megatherium Heinze und zum B. Petasites.

I. Die Aehnlichkeit des B. silvaticus mit dem B. megatherium zeigt sich 1) in der Form und Größe der Sporen, 2) in der starken Fettspeicherung und dem Mangel an Volutin, 3) in der schnellen Art der Entwickelung von Spore zu Spore, 4) in der Bräunung des Dextroseagars und der rötlichen Färbung der Agarstrichkolonie.

Die Unterschiede beider beruhen in folgendem:

1) Auf Dextroseagar kommen ausgesprochen cylindrische Formen und ovale mit nur konvexen Polen, wie sie B. silvaticus zeigt, bei B. megatherium selten vor. Nach der Größe sind die bohnenförmig gestalteten Sporen des B. silvaticus schmaler als die schmalsten Sporen des B. megatherium. Bei ersterem 1,8 : 0,8 μ, bei letzterem 1,6 : 1 μ. 2) Die Anschwellung der Sporen vor der Keimung ist bei B. megatherium größer (4 μ lang, 2 μ breit), als bei B. silvaticus (2,8 μ lang, 2,1 μ breit. 3) B. megatherium keimt ausschließlich polar, B. silvaticus fast ausschließlich äquatorial. Jener wirft die Sporangienmembran rasch,

dieser langsam ab. 4) Die lebhafte Beweglichkeit der Stäbchen des B. silvaticus, welche nach 8—9 Stunden beginnt und im Kondenswasser nach 48 Stunden noch andauert, besitzt B. megatherium nicht. 5) Die häufig keilförmige Gestalt der Einzelstäbchen nach 14-stündiger Entwickelung auf Dextroseagar, die konischen Endstäbchen seiner Fäden nach 20—24 Stunden sind dem B. silvaticus gegenüber B. megatherium eigentümlich. 6) B. silvaticus gedeiht gut in sämtlichen Asparaginnährlösungen (IV, V, Vα—δ) mit Ausnahme von X, ferner in VI und VII. B. megatherium wächst nur in Asparaginnährlösung mit Rohrzucker (Vα).

II. Dem B. Petasites steht B. silvaticus in folgenden Beziehungen nahe:

1) Beide sind Fettbildner und geben keine Volutinreaktion. 2) Die Sporen sind sich in der Form nahestehend. 3) Beide zeigen eine fast gleich schnelle Entwickelung auf Dextroseagar. 4) Die Oidien besitzen bei beiden eine große Beweglichkeit. 5) Sie bilden ähnliche Involutionsformen.

Die Unterschiede beider beruhen in folgenden Punkten: 1) B. silvaticus ist fakultativ anaërob, B. Petasites streng aërob. 2) Die cylindrische Form der Sporen, welche B. silvaticus fast zu gleichen Teilen mit der ovalen besitzt; kommt bei B. Petasites nur ausnahmsweise vor. Auch sind im allgemeinen die Sporen des B. silvaticus etwas kleiner als diejenigen des B. Petasites. 3) Die Keimung erfolgt bei B. silvaticus fast ausschließlich äquatorial schon nach 2—$2^1/_2$ Stunden. Bei B. Petasites ist äquatoriale Keimung selten und tritt die Keimung unter gleichen Verhältnissen erst nach 4—5 Stunden ein. 4) Die Sporen schwellen vor der Keimung mehr in die Breite, als in die Länge an, 2,1 : 2,8 μ, bei B. Petasites 1,8 : 4,5 μ. 5) Die Keimstäbchen des B. silvaticus haben kürzere Septen, sind im Durchschnitt breiter und behalten die Sporenmembran länger als B. Petasites. 6) Nach 14—16-stündiger Entwickelung auf Dextroseagar finden sich bei B. silvaticus hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen, welche vielfach dick, plump und an den Enden stark konvex bis konisch mit abgestumpften Spitzen verlaufen. Häufig sind die Einzelstäbchen keilförmig gestaltet. Es finden sich schon vereinzelte Sporenanlagen. B. Petasites hat Einzelsowie Doppelstäbchen normal 1- bis 2-lang, viele 4- bis 8- und mehr lange, septierte Fäden und noch keine Sporenanlagen. 7) Die Stäbchen der Fäden des B. silvaticus werden bei weiterer Entwickelung dick und kugelig, nicht häufig schmaler wie beim B. Petasites. Die einstäbigen Sporangien des B. silvaticus sind oft keilförmig. 8) B. Petasites wächst nicht, oder nur äußerst schwach in Asparaginlösung ohne Kohlenhydrat (N.L. IV). B. silvaticus wächst darin reichlich unter starker Alkalibildung, dagegen zeigt er in N.L. X kein Wachstum, während B. Petasites in dieser gut gedeiht.

Die wichtigsten Merkmale des Bacillus silvaticus A.M. et Neide.

Sporen: Sporengröße der normalen ovalen Sporen 1,7 μ lang, 1,1 μ breit, der normalen cylindrischen 1,75 μ lang, 0,8 μ breit, der bohnenförmigen 1,8 μ lang, 0,8 μ breit. Sporenform: oval, cylindrisch und bohnenförmig. Die Sporenmembran ist mittelstark. Exine und Intine sind bei großen Exemplaren ungefärbt, am besten mit Jodjodkalium s unterscheidbar. Vor der Keimung schwellen die Sporen mehr in die Breite als in die Länge an (Fig. IIIa 1—16). Die Keimung erfolgt schon nach 2—2½ Stunden, hauptsächlich äquatorial unter einseitigem Aufreißen der Sporenmembran, auch unter Krümmung des Keimstäbchens schon in der Spore und unter gekrümmtem Heraustreten des Stäbchens. Polarkeimung ist selten (Fig. IIIb 1—7). Die Keimstäbchen werden bis 4-lang und 1,2 μ bis 1,6 μ breit. Auf Dextrose-agar. Nach 8—9 Stunden vorwiegend Einzel- und Doppelstäbchen 1- bis 2-lang, 1—3-zellig und 1,5 μ bis 1,9 μ breit. Der Protoplast mit Zellsaftvakuolen und Fettkugeln. Nach 14 Stunden neben den Einzel- und Doppelstäbchen 3—4-stäbige Fäden, deren Stäbe meist 1-zellig, 1-lang und 1,2 μ bis 1,9 μ breit sind. Starke Fettspeicherung. Unter den Einzelstäbchen sind die keilförmigen (Fig. IIIe 2), unter den Doppelstäbchen und mehrstäbigen Fäden konische Zuspitzungen der Endstäbchen charakteristisch. Nach 20 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen und 4—6-stäbige Fäden mit Sporen-Anlagen. Eigentümlich sind starke Anschwellungen der Stäbchen und verschiedene Lage der Sporen (Fig. IIIf 6—9 g, 1—4). Nach 30—40 Stunden viele freiliegende Sporen, involutionsartige Formen, besonders stark konische, abgestumpfte Endstäbchen. Die Beweglichkeit ist auf die 8—20-stündige Kultur begrenzt. Die Begeißelung ist peritrich mit langen, zahlreichen Geißeln (Fig. IIIe 4).

Die Intensität des Wuchses in den N.L. IV, V, Vα—δ, VI, VII = 2—4, III und X = 0 ist charakteristisch. Agarstrichkultur: Nach 20 Stunden weißgelblich, nach 36 Stunden hellbräunlich, nach 2—3 Tagen rotbräunlich, später dunkelbraun unter gleicher Färbung des Agars. Möhrenkultur: Kein Wachstum. Kartoffelscheibe: Nach 3 Tagen schon großer, gelbgrauer, schleimiger, nach 3 Wochen käsiger, zäher Belag. Die Kolonie besteht zu dieser Zeit vorherrschend aus Einzel- und Doppelsporangien, weniger aus 4—6-stäbigen Fäden, deren Endstäbe die eigentümlichen Involutionsformen zeigen. Alkali- und Diastasebildung: in N.L. IV. Reservestoffe: Fett. Gasbildung: fehlt. Gelatine: wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 20′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 40—45′.

(Fortsetzung folgt.)

Die histologischen und chemischen Veränderungen der Leinstengel unter Einwirkung der Mikroben der Pektin- und Cellulosegärung.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im Kaiserlichen Institute für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

Mit 1 Tafel.

Indem ich meine Untersuchungen im Gebiete der Cellulosegärung fortsetzte, stellte ich mir vor allem zur Aufgabe, die Einwirkung der von mir entdeckten Mikroben auf Cellulose, welche sich innerhalb der Pflanze, sozusagen in ihren natürlichen Lageverhältnissen befindet, zu studieren. Bisher habe ich beim Studium der Cellulosegärung fast ausschließlich reine Cellulosepräparate, Baumwoll- und Leinfasern, präzipitierte Cellulose u. s. w. benutzt und die Frage nach der Zersetzung der Cellulose in Geweben, wo sie gegen die Einwirkung der Mikroben durch die umgebenden histologischen Elemente geschützt ist, gar nicht berührt. Derartige Untersuchungen sind aber schon deshalb von Wert, weil diese Zersetzungsbedingungen sich den bei der natürlichen Zerstörung des Pflanzenskelettes zu beobachtenden einigermaßen nähern.

Es mußte festgestellt werden, inwieweit der Prozeß der Cellulosezersetzung unter derartigen Bedingungen erfolgreich von statten gehen, resp. ob er durch unmittelbare histologische Untersuchung des pflanzlichen Gewebes vor und nach Einwirkung des Cellulosebacillus oder durch chemische Analyse nachgewiesen werden könnte.

Ich wählte Leinstengel als für meine Zwecke passendes Objekt, und zwar hauptsächlich aus dem Grunde, weil in ihm, wie überhaupt bei allen Textilpflanzen, die Cellulosefasern in bestimmten Gewebsbezirken lokalisiert sind, ein Umstand, welcher vergleichend histologische Untersuchungen über das Verhalten desselben bedeutend erleichtert. Andererseits bezweckte ich mit meiner Wahl noch, mein ursprüngliches Thema etwas zu erweitern, indem ich auch noch die Pektingärung oder den Prozeß der Leinröste von demselben Gesichtspunkte zum Gegenstande meiner Untersuchungen machte. Es lohnte sich um so mehr, durch direkte bakteriologische Versuche das Resultat der Einwirkung des Cellulosebacillus, einerseits, und des Pektinbacillus, andererseits, zu vergleichen, als noch bis in die neueste Zeit in der Wissenschaft Stimmen laut werden, welche in dem Rösteprozeß Mikroben, zu deren Funktionen auch die Cellulosezersetzung gehört, eine aktive Rolle zu erteilen. Diese Anschauung stammt von Trécul und Van Tieghem,

her und wird bis heute von einigen, namentlich französischen Bakteriologen, unter anderen von Duclaux (vergl. sein Traité de Microbiologie. T. IV) vertreten. Zu Gunsten derselben spricht, wie man annehmen könnte, die Beobachtung, daß man aus Leinstengeln, welche zu lange geröstet worden sind, nur wenig dauerhafte Fasern erhält, und das zwar nicht nur unter Bedingungen der technischen Röste, bei welcher natürlicherweise die Teilnahme von fremden Mikroorganismen möglich ist, sondern auch bei Laboratoriumsversuchen, wo die sterilisierten Leinstengel mit Reinkulturen der Mikroben der Leinröste (Fribes) infiziert werden. Man gewinnt den Eindruck, als ob die Mikroben der Leinröste, nachdem sie es mit den Pektinsubstanzen abgetan haben, ihre Tätigkeit dann auf die Cellulosefasern selbst, welche sie zum Teil zerstören, richten. Es mußte aufgeklärt werden, ob dem in Wirklichkeit so ist, d. h. ob bei der Leinröste auch nur eine partielle Cellulosezersetzung stattfindet, oder anderenfalls wodurch die Verminderung der Festigkeit von Leinfasern nach protrahierter Röste zu erklären ist.

Als Material für meine vergleichend histologischen und chemischen Untersuchungen dienten also:

1) Normale Leinstengel, welche ich zur Kontrolle verwendete,

2) Leinstengel, welche der Pektingärung ausgesetzt worden waren (Leinröste), und

3) Leinstengel nach Einwirkung des Cellulosemikroben auf dieselben.

In den Versuchen wurden trockene Leinstengel, welche von der Dubrowschen Leinverarbeitungsstation des Ministeriums der Landwirtschaft und Reichsdomänen (im Gouvernement Pskow) bezogen worden war, verwendet. Da es für meine vergleichenden Versuche wünschenswert war, möglichst gleichartiges Material zu besitzen, so wählte ich die Stengel aus einer und derselben Partie und sortierte sie auf das sorgfältigste nach der Dicke.

Die Leinstengel, welche mir zur Kontrolle dienten, wurden genau ebenso bearbeitet wie diejenigen, welche ich der Einwirkung von Bakterien aussetzte, d. h. sie wurden im Wasser ausgekocht, in flüssigem Medium sterilisiert, im Thermostaten der Bruttemperatur ausgesetzt, getrocknet u. s. w., mit einem Wort: es geschah mit ihnen, von der Einwirkung von Mikroben abgesehen, all das, was auch an den übrigen Leinsorten ausgeführt wurde.

Bei meinen Versuchen über Leinröste hielt ich mich an die Methodik, welche in unserem Laboratorium von Fribes bei seinen unter Leitung von Herrn Prof. S. Winogradsky ausgeführten Untersuchungen über Pektingärung ausgearbeitet worden ist. Aus gleichartigen Leinstengeln wurden Bündelchen von verschiedener Größe, je nach den Dimensionen der Gärungsgefäße, bereitet, gründlich in kochendem Wasser ausgebrüht, um die Extraktivstoffe zu entfernen, dann in eine frische Portion Leitungswasser oder in eine Mineralsalzlösung gebracht und in dieser im Laufe einer halben Stunde bei

110° sterilisiert. Infiziert wurde das Leinstroh mit einer Reinkultur des Bacillus der Leinröste, welcher von Fribes aus einer von Belgien aus bezogenen Partie von gerösteten Leinstengeln isoliert worden war[1]). Dieser Bacillus, welchen ich hier nicht näher beschreiben will, gehört zu den anaëroben Mikroorganismen und zeichnet sich durch seine höchst energische Wirkung aus, indem er den Rösteprozeß in einigen Tagen fertig vollendet[2]). Cellulosegärung rief ich durch den Bacillus der Methangärung hervor, welcher in meiner diese Frage behandelnden Arbeit beschrieben worden ist[3]).

Meinen ersten Versuch stellte ich am 8. Januar 1902 an, um mir Material zur vergleichend histologischen Untersuchung aller 3 Arten von Leinstengeln, d. h. den unbearbeiteten (Kontrollprobe), den gerösteten und den der Wirkung der Cellulosezersetzungsmikroben ausgesetzten, zu verschaffen.

Zum Versuche dienten 300 ccm fassende Kolben mit langem Halse. Die Leinstengel wurden in Stückchen von 7 ccm Länge geschnitten und zu kleinen Bündelchen vereinigt. Die Fäden, mit denen die Bündelchen an zwei Stellen zusammengehalten wurden, konnten sich in den Versuchen mit Cellulosegärung als sehr unsicheres Band erweisen. Deshalb wurden die Bündelchen in der Mitte noch mit dünnem Platindraht umflochten. Damit die Leinbündelchen bei der Gärung nicht in der Flüssigkeit emporstiegen, wurde in jeder derselben ein an seinem Ende nadeldünn ausgezogenes Glasstäbchen gesteckt. Auf den Boden der Kolben schüttete ich eine geringe Menge Kreide zwecks Neutralisation der sich entwickelnden Säuren. Die so beschickten Kolben wurden bis nach oben mit einer Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung gefüllt:

Ammoniumphosphat	1
Kaliumphosphat	1
Magnesiumsulfat	0,5
Chlornatrium	Spuren
Aqua destillata	1000.

Nun kamen die Kolben in den auf 35° C temperierten Brutschrank.

Da es für meine Zwecke erwünscht war, daß die Mikrobenwirkung in den Bündeln eine möglichst ausgiebige sei, so traf ich folgende Vorsichtsmaßregeln.

1) Es wurde eine im Vergleich zum Flüssigkeitsvolum relativ

1) Das Material wurde von Prof. E. Laurent in Gembloux erhalten und stammte aus den berühmten Leinrösteanlagen auf dem Lys.

2) Die Untersuchungen von Fribes über die Leinröste, welche zu wertvollen Ergebnissen geführt haben, sind bis jetzt aus rein äußeren Gründen nicht in extenso veröffentlicht worden.

3) Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 193, 225, 257, 289, 321, 353, 385 u. 605.

geringe Menge des zur Gärung dienenden Materials verwandt, damit die schädliche Wirkung der Gärungsprodukte weniger zum Ausdruck kommen könnte.

2) Der Versuch wurde bis zum 8. März ausgedehnt, d. h. er dauerte 2 Monate, also einen Zeitraum, im Laufe dessen die Mikroben ihre Wirkung sogar in einem so trägen Prozesse, wie es die Cellulosegärung ist, in vollem Maße äußern mußten.

Der Kontrollkolben No. 1 wurde im Laufe von 2 Monaten in sterilem Zustande im Thermostaten aufbewahrt; die Flüssigkeit trübte sich nicht, und es waren auch sonst gar keine Anzeichen von Bakterienwirkung zu bemerken.

In dem mit Bacillen der Leinröste infizierten Kolben No. 2 begann die Gärung bereits am 2. Tage und kam bald zum Stillstande. Aeußerlich kam die Gärung nur sehr wenig zum Ausdruck, was davon abhing, daß die Quantität des Gärungsmaterials im Vergleich zu dem Volumen der Flüssigkeit eine verschwindende war.

Der mit dem Cellulosebacillus infizierte Kolben No. 3 begann am 10. Tage zu gären. Gasausscheidung war aus den nämlichen Gründen kaum zu bemerken.

Nach Abschluß der Versuche wurde das Material bei Zimmertemperatur getrocknet und untersucht. Hierbei fiel sofort ein scharfer Unterschied zwischen den verschieden bearbeiteten Leinstengeln auf.

Das Stroh des Kontrollbündelchens hatte seine anfängliche braun-grünliche Färbung und seine Elastizität beibehalten, es brach nicht so leicht und seine Fasern waren schwer vom Kern zu trennen.

Die Stengel des gerösteten Bündelchens hatten eine hellere gelbliche Färbung angenommen und in denselben ließen sich Fasern und Kern äußerst leicht voneinander trennen, letzterer war außerdem anscheinend etwas trockener geworden. Die das Bündelchen an zwei Stellen zusammenhaltenden Baumwollfäden waren ebenso, wie im Kontrollversuch, ganz unversehrt geblieben. Was die Konsistenz der Leinfasern anbetrifft, so hatten sie, wie auch anzunehmen war, nach so protrahierter Röste einen Teil ihrer Festigkeit eingebüßt. Wir beabsichtigten aber gerade, diese Veränderung hervorzurufen, um ihre Ursachen aufzuklären.

An den der Cellulosegärung ausgesetzten Leinstengeln äußerte sich die Wirkung der Mikroben noch schärfer. Sie hatten einen bräunlichen Farbenton angenommen. Bei Zerreibung desselben mit den Fingern, wie man das beim Ausprobieren der gerösteten Leinstengel tut, merkte man sofort, daß sämtliche Cellulose der Leinfasern zersetzt war, so daß die Stengel beim Reiben zwischen den Fingern leicht in Spreu zerfielen. Die die Bündelchen zusammenhaltenden Baumwollfäden waren durch die Mikroben fast vollständig zerstört worden, es war nur ein

Schatten von ihnen, ein kaum sichtbarer braungefärbter Streifen, welcher unter den Fingern zu Pulver zerfiel, übrig geblieben.

Dieser erste Versuch überzeugte mich, daß der erwünschte Zweck erreicht war, d. h. daß sowohl die Röste als auch die Cellulosezersetzung ihr Ende ganz oder fast ganz erreicht hatte, und daß also das gewonnene Material für die histologische Untersuchung tauglich war. Diese letztere sollte über die Veränderungen oder den Schwund der einzelnen morphologischen Elemente der Gewebe Aufschluß geben und in dieser Weise den Charakter und die Grenzen der Wirkung beider Mikroben bestimmen.

Die in absolutem Alkohol entwässerten Leinstengel versuchte ich anfangs in Paraffin einzubetten, jedoch konnte ich auf diese Weise keine befriedigenden Schnitte erhalten. Nach einigen vergeblichen Versuchen mit Paraffinsorten ging ich zum Celloidin über, mit welchem ich ohne besondere Schwierigkeiten befriedigende Ergebnisse erzielte.

Ich fertigte drei Lösungen von Celloidin in einem Gemisch von Alkohol und Aether zu gleichen Teilen an: 1) eine zweifache Verdünnung der bei Zimmertemperatur gesättigten Lösung, 2) und 3) eine zweifache und eine vierfache Verdünnung dieser letzten Lösung [1]). Die in Stückchen von ca. 2 cm Länge zerschnittenen Leinstengel wurden auf je 1 bis 2 Tage in die verschiedenen Celloidinlösungen, von der verdünntesten beginnend, gebracht. Weiter wurden die der konzentriertesten Lösung entnommenen Strohhälmchen auf das spitze Ende einer Nadel gesteckt, welche einen mit einem Papierkragen versehenen Propfen durchbohrte, worauf der Raum zwischen Papier und Pfropfen mit dem darauf steckenden Leinstengel mit der starken Celloidinlösung ausgefüllt wurde. Sobald das Celloidin von der Oberfläche aus genügend gehärtet war, wurden Pfropfen nebst Celloidin in 75-proz. Alkohol getaucht, wo letzteres vollständig erstarrte.

Schnitte fertigte ich mit Hilfe des Handmikrotoms von Reichert an. Da ich sämtliche morphologische Gewebeelemente, welche durch die Bakterieneinwirkung ihre Kohärenz eingebüßt hatten, möglichst in situ erhalten wollte, so vermied ich in sämtlichen Fällen die Lösung des die Schnitte durchtränkenden und umgebenden Celloidins. Die Schnitte wurden in gefärbtem oder ungefärbtem Zustande untersucht und in Glycerin eingebettet.

Die meiner Veröffentlichung beigelegten Photogramme sind mit einem kleinen transportablen mikrophotographischen Apparate von Reichert bei Beleuchtung mit einem Auer-Brenner angefertigt worden. Das Genauere über die Färbungsmethode in jedem einzelnen Falle, sowie über die Vergrößerung findet man am Ende der Abhandlung bei der Erklärung der Abbildungen angegeben. Ich muß jedoch hier bemerken, daß es mir nicht gelungen ist, mit

1) Nach Apáthy, Encykl. der mikr. Technik. p. 107.

des von Mangin[1]) und Haumann[2]) empfohlenen Phenosafranins, welches die mit Pektinsubstanzen durchtränkten Gewebe differenzieren soll, indem es dieselben orangerot (die übrigen Gewebe aber rot) färbt, befriedigende Ergebnisse zu erzielen. Bedeutend bessere Färbung ergab das zur Hälfte mit Glycerin verdünnte Biondische Gemisch. Hierbei färben sich die die Faserbündel umgebenden Phloëmelemente intensiv braun, das Xylem grünlich, die Faserbündel aber bleiben fast farblos. In diesem Farbengemisch lasse ich die Schnitte 1—2 Tage liegen.

Die Photogramme 1—3 geben in verschiedenen Vergrößerungen das Bild der Querschnitte durch die der Bakterienwirkung nicht ausgesetzten Leinstengel, d. h. der Kontrollpräparate, wieder. Man sieht hier, daß die Faserbündel wie mit einer Scheide von allen Seiten mit dünnwandigen Phloëmelementen, welche die Fasern sowohl untereinander als auch mit dem inneren Xylemcylinder (dem Kern) zusammenhält, umgeben sind. Weiter ersieht man aus den Abbildungen, daß die einzelnen Fasern, welche das Bündel bilden, wie die Pflöcke eines Holzstraßendammes fest, ohne Zwischenräume aneinanderliegen.

Die Photogramme 4—6 stellen Abbildungen von Querschnitten durch Leinstengel, welche der Wirkung des Bacillus der Leinröste ausgesetzt worden waren, vor. Im Vergleich zu den Kontrollpräparaten verändert sich hier das Bild ganz und gar, und dieser Unterschied springt sofort in die Augen. Die dünnwandigen Phloëmelemente, welche die Faserbündel allerseits umgaben, sind hier in bedeutendem Maße zerstört. Auf dem bei geringer Vergrößerung aufgenommenen Photogramm 4 findet man das Allgemeinbild des unter Einwirkung der Röste veränderten Stengelbastteiles, Photogramm 5 veranschaulicht den Schwund der die Faserbündel von dem Kern trennenden Elemente, Photogramm 6 denjenigen des die Faserbündel voneinander trennenden Gewebes. Weiter bemerkt man auf denselben drei Photogrammen, daß die einzelnen Fasern, welche das Bündel bilden und auf den Kontrollpräparaten fest aneinander geschmiegt sind, hier ziemlich weit voneinander abstehen und ordnungslos auseinander geschoben sind. Ich will diesen Befund hervorheben, da er die verminderte Festigkeit der Faser bei allzusehr protrahierter Röste erklärt.

Bei der Leinröste findet bekanntlich Zersetzung der Pektinsubstanzen, welche der die Faserbündel umgebenden Parenchymwand angehören, sowie auch das Calciumpektat der Mittellamellen der Faser selbst. Es muß angenommen werden, daß anfänglich die Zellmembranen der die Faserbündel umgebenden Gewebselemente zerstört werden. Unterbricht man die Röste in diesem Moment, so erhält man eine sehr dauerfeste technische Faser, da diese aus ganzen

1) Mangin, Propriétés et réactions des composées pectiques. (Journ. de Botanique. T. VI. 1897. p. 206. 235 et 363.)

2) Haumann, Etude microbiologique du rouissage du lin. (C. R. T. CXXXIV. 1902. p. 1163; siehe auch seine Abhandlung in Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. p. 379.)

Faserbündeln, deren Elemente fest aneinander haften, bestehen. Bei allzu kurzdauernder Röste erhält man sogar allzu grobe, sogenannte „Bandfaser", da in diesem Falle alle, sowohl großen als auch kleinen Faserbündel in unveränderter Form, zum Teil vielleicht sogar in ganzen Komplexen, erhalten werden. Werden jedoch bei allzu protrahierter Röste auch die zwischen den Fibrillen dahinziehenden Mittellamellen zerstört, so büßen die einzelnen Elemente der Bündel ihre Kohärenz ein und die technische Faser stellt sich als nicht dauerhafte „gewollte" dar.

Auf den Photogrammen 7—9 endlich sind die Veränderungen der Leinstengel unter Einwirkung des Cellulosebacillus wiedergegeben. Wie ersichtlich, ist von den Faserbündeln und den diese umgebenden Elementen keine Spur mehr übrig geblieben; die Epidermis umhüllt hier unmittelbar den Kern. Der Schwund der dünnwandigen Phloëmelemente bei dieser Bearbeitung kann sich durch die Zersetzung ihrer aus Cellulose bestehenden Wandungen erklären.

Wir sehen also, daß das Bild der Veränderungen der Leinstengel, die verschiedener Bakterienwirkung ausgesetzt worden waren, die oben erwähnten Eigenschaften dieser Stengel nach entsprechender Behandlung vollständig erklärt. Wir begreifen jetzt, warum die Faserbündel in unbearbeiteten Leinstengeln schwer zu isolieren, warum diese in gerösteten Lein leicht ausführbar sind und weshalb die Leinstengel, welche der Einwirkung des Cellulosebacillus ausgesetzt waren, so leicht zerbröckelten.

Nachdem ich bei der histologischen Untersuchung von in verschiedener Weise bearbeiteten Leinstengeln zu so augenfälligen Ergebnissen gekommen war, beschloß ich, meine Untersuchungen in der Weise zu ergänzen, daß ich durch direkte chemische Analyse die Frage nach der chemischen Arbeitsleistung beider Bacillen zu lösen suchte. Sehr erschwert wurde dieser Teil meiner Arbeit dadurch, daß unsere Kenntnisse über die chemische Zusammensetzung pflanzlicher Gewebe höchst unvollständig sind, unsere analytischen Methoden nur einen relativen und bedingten Wert besitzen und wir infolgedessen keine strikte Antwort auf die schwierige Frage nach der Grenze der Reaktionsfähigkeit des einen oder des anderen Mikroben geben können. Nichtsdestoweniger unternahm ich einige Parallelbestimmungen an sämtlichen drei Sorten von Leinstengeln, welche mich zu einigen Schlußfolgerungen berechtigen.

Vor allem versuchte ich mir einen, wenn auch nur indirekten Begriff über die Arbeit der Mikroben zu verschaffen, indem ich den Gewichtsverlust der Leinstengel nach verschiedener Bakterienwirkung bestimmte. Da hierzu mehr oder weniger bedeutende Mengen des Untersuchungsmaterials notwendig waren, so veränderte ich in diesem Falle meine Gärungsversuche in folgender Weise :

Am 2. April 1902 wurden aus ein und derselben Portion der Leinstengel 6 Bündel von je 50 cm Länge angefertigt. In lufttrockenem Zustande wog ein jedes derselben 50 g. Die Bündel

wurden in großen Glascylindern von 85 cm Länge und 5,5 cm Breite (Rauminhalt ca. 1500 ccm) der Gärung unterworfen. Auf den Boden eines jeden Cylinders warf ich je 50 g Marmor in groben Stücken, welcher vom Staub durch Waschen gesäubert war. Vor dem Versuch wurden die Leinbündel in Wasser abgekocht, hierauf kamen sie in die Glascylinder, welche dann mit der oben erwähnten Salzlösung gefüllt wurden. Nach Sterilisation bei 110° wurden die Glascylinder in entsprechender Weise infiziert und dann mit Gummipfropfen, durch die ein Gasabführungsrohr mit Quecksilberverschluß ging, verschlossen.

Cylinder 1 und 2 wurden gar nicht infiziert und dienten zur Kontrolle.

In Cylinder 3 und 4 brachte ich je ein kleines Leinbündelchen, welches vordem unter Einwirkung einer Reinkultur des Leinröstebacillus gestanden hatte.

Cylinder 5 und 6 endlich wurden mit halbverfaulten Leinfasern aus einer gereinigten Kultur des Metangärungsbacillus der Cellulose infiziert.

Die Versuchstemperatur betrug 37° C.

Schon am folgenden Tage, d. h. am 3. April, begann in beiden mit Bacillen der Leinröste infizierten Cylindern (3 und 4) eine energische Gärung, welche 3 Tage dauerte und vom 4. Tage an abnahm. Am 11. April hörte in beiden Cylindern die Gasausscheidung auf, jedoch verblieben sie im Thermostaten noch bis zum 16. April, wo die in ihnen enthaltenen Leinbündel zu gleicher Zeit mit denjenigen der Kontrollcylinder herausgenommen und getrocknet wurden.

In Cylinder 5 und 6, welche mit dem Cellulosebacillus infiziert worden waren, war schon vom 1. Tage an schwache Gärung zu vermerken, jedoch war sie augenscheinlich auf Kosten der Leinfasern, mit denen die Cylinder infiziert worden waren, zu setzen. Erst am 20. April machten sich die ersten Anzeichen einer Cellulosegärung in den Leinstengeln selbst bemerkbar, sie war jedoch viel schwächer als wie gewöhnlich. Hierbei begannen die die Bündel zusammenhaltenden Fäden allmählich eine gelbe Färbung anzunehmen und sich zu zerstören. Die Cylinder blieben bis zum 4. September im Thermostaten. Es erwies sich jedoch, daß trotz dieser langen Versuchsdauer die Leinstrohfasern noch lange nicht zerstört waren. Da die Flüssigkeit, in welche die Bündel getaucht waren, im Moment, wo der Versuch unterbrochen wurde, einen deutlichen sauren Geruch besaß und Lackmuspapier rot färbte, so mußte angenommen werden, daß der normale Gang des Gärungsprozesses durch ungenügende Neutralisation der Flüssigkeit gestört worden war. Das so gewonnene Versuchsmaterial taugte also nicht für die chemische Untersuchung und der Versuch wurde infolgedessen fortgesetzt.

Am 17. September 1902 wurden dieselben zwei Leinstrohbündel in Glascylinder, in die vordem 50 g Kreide geschüttet worden waren, getan, dann wurde mit der Salzlösung nachgefüllt, sterilisiert und das Ganze mit dem nämlichen Bacillus infiziert. Der Beginn der Gärung konnte am 27. September vermerkt werden. Mitte

Oktober waren beide Bündel in voller Gärung begriffen. Am 27. November war der Prozeß so weit vorgeschritten, daß die Baumwollfäden, welche die Bündel zusammenhielten, wegen starker Zersetzung kaum noch dazu fähig waren. Am 27. März 1903 wurde der Versuch unterbrochen und die Bündel den Cylindern entnommen. Dieses Mal hatte der Prozeß unzweifelhaft fast sein Ende erreicht, denn die Strohhalme zerbrachen und zerstückelten sehr leicht und die Baumwollfäden waren fast ganz verfault.

In sämtlichen drei Versuchsreihen wurden die Leinbündel in ganz gleicher Weise getrocknet. Nachdem sie den Cylindern entnommen worden waren, blieben sie 15 Stunden lang bei Zimmertemperatur in vertikaler Lage stehen, damit die sie durchtränkende Flüssigkeit abfließen könnte. Am folgenden Tage kamen sie in den auf 30° C temperierten Brutschrank, in dem sie bis zu konstantem Gewicht getrocknet wurden. Hierauf blieben sie noch 2 Tage bei Lufttemperatur liegen und wurden dann in lufttrockenem Zustande gewogen.

Inbetreff der erhaltenen Zahlenwerte muß ich bemerken, daß sie für die Leinstrohbündel 5 und 6 zu hoch sind, da in dieser Versuchsreihe Kreide zur Neutralisation diente und dieselbe durch einfaches Abspülen im Wasser schwer zu entfernen war. Deshalb mußte ich eine besondere, einem jeden Bündel entnommene Probe mit 1-proz. Salzsäure bearbeiten, um alle Kreide aufzulösen, ordentlich abwaschen, trocknen und dann wieder wägen. Die bei dieser letzten Wägung erhaltenen Zahlen wurden auf das Gewicht des ganzen Bündels berechnet und sind in folgender Tabelle in Klammern unter den entsprechenden Werten der anfänglichen Wägung angegeben:

	No. der Bündel	Gewicht der Bündel	Mittelwert	Gewicht in Prozenten	Prozentverlust
Kontrollversuch	1 2	44,2 44,5	44,35	100	—
Pektingärung	3 4	41,8 41,9	41,85	94,4	5,6
Cellulosegärung	5 6	34,2 (30,2) 34,7 (30,6)	34,45 (30,4)	77,7 (68,6)	22,3 (31,4)

Die Zahlen der letzten vertikalen Kolonne geben uns einen Begriff über den in Prozenten ausgedrückten Substanzverlust unter Einwirkung beider Arten von Gärung. Die Zahlen besitzen natürlich keinen absoluten Wert, und zwar schon deshalb nicht, weil die Zusammensetzung der verschiedenen Leinstrohbündel eine sehr verschiedene sein kann. Am richtigsten wäre es, unsere Zahlen mit den technischen Mittelwerten für den Gewichtsverlust bei der Röste einerseits und der Ausbeute an Fasern andererseits (welche dem Gewichtsverlust bei der Cellulosegärung in unserem Versuch entspricht) zu ver-

gleichen. Im ersteren Falle müssen natürlich auch die Extraktivstoffe, welche zweifellos bei der Leinröste zum größten Teil ausgewaschen werden, in Betracht gezogen werden.

Ich habe auch einige Parallelbestimmungen an sämtlichen drei Leinstrohsorten ausgeführt.

1) Pektinsubstanzen. Je 5 g. Kontrollstroh und geröstetes Stroh wurden im Laufe einer halben Stunde mit Alkohol ausgekocht, dann ordentlich in Wasser ausgewaschen und mit 250 ccm einer 2-proz. Salzsäurelösung bearbeitet ($^1/_2$ Stunde lang erwärmt). Die durch ein Papierfilter durchgelassenen Flüssigkeiten wurden hierauf mit dem gleichen Volumen Alkohol vermengt. In der Kontrollflüssigkeit entstand hierbei sofort ein nicht besonders voluminöser, amorpher, aus Pektinsubstanzen bestehender Niederschlag. In der aus geröstetem Lein erhaltenen Flüssigkeit jedoch bildete sich überhaupt kein Niederschlag.

2) Cellulose. Je 3 g fein zerschnittenes Stroh von einer jeden der 3 Proben wurden mit je 500 ccm Schweizerschem Reaktiv vermengt und dann im Laufe von 5 Tagen unter häufigem Umschütteln aufbewahrt. Hierauf wurde die Flüssigkeit durch Glaswatte vom Bodensatz abfiltriert und die ganz durchsichtigen Filtrate mit verdünnter Salzsäure gefällt. Nachdem die Flüssigkeit noch durch ein Papierfilter hindurchgelassen war, wurde der Niederschlag ordentlich mit Wasser ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Die hierbei erhaltenen Zahlenwerte sind folgende:

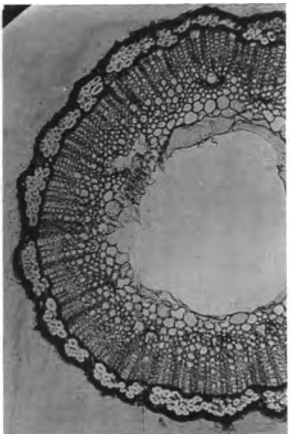
Kontrollstengel	0,695 g
Geröstete Stengel	0,697 „
Der Cellulosegärung ausgesetzte Stengel	0,153 „

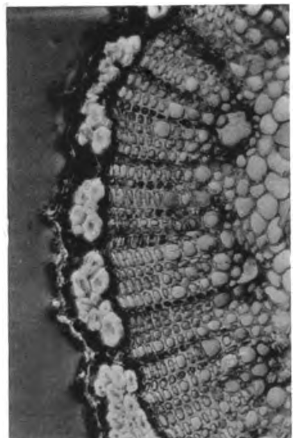
Aus diesen Zahlenwerten geht hervor, daß 1) nach der Leinröste in dem Cellulosegehalt keine Veränderung zu konstatieren war und 2) die Cellulosegärung, trotz der langen Dauer des Versuches, doch nicht ihr Ende erreicht hatte. Dieser letztere Befund muß dadurch erklärt werden, daß das zur Gärung bestimmte Material im Vergleich zu dem Volumen der Flüssigkeit einen allzu beträchtlichen Wert darstellte und die Gärungsprodukte auf den weiteren Gang des Prozesses schädlich einwirken konnten.

3) Xylan. Der Xylangehalt wurde in sämtlichen drei Leinstrohproben nach der von G. Bertrand[1]) beschriebenen Methode bestimmt. Je 10 g einer jeden Leinprobe wurden erst mit warmem Wasser, dann mit siedendem Alkohol ausgewaschen, hierauf mit 100 ccm einer 2-proz. Aetznatronlösung bearbeitet. Weiter wurden die das Gemisch enthaltenden Gefäße unter häufigem Schütteln im Vakuumapparat aufbewahrt. Hierauf wurde die Flüssigkeit abfiltriert und mit 90° Alkohol gefällt. In sämtlichen drei Leinstrohproben war die Menge des Niederschlages eine ungefähr gleiche. Ich gebe die erhaltenen Zahlenwerte nicht an, weil die Extraktion

---

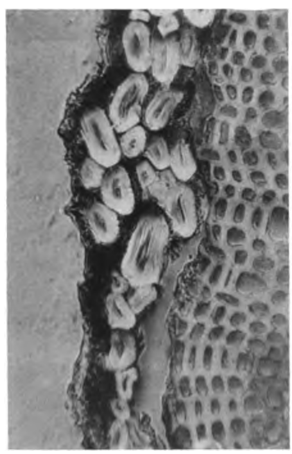
1) Bertrand, G., Recherches sur la composition immédiate des tissus végétaux. (Comptes rendus. T. CXIV. 1892. p. 1492.)


1.

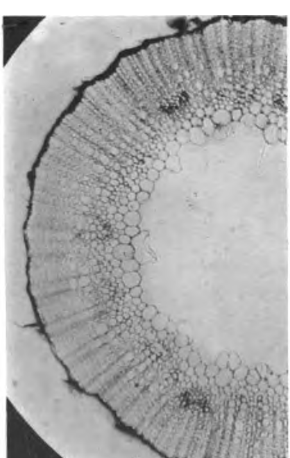

2.

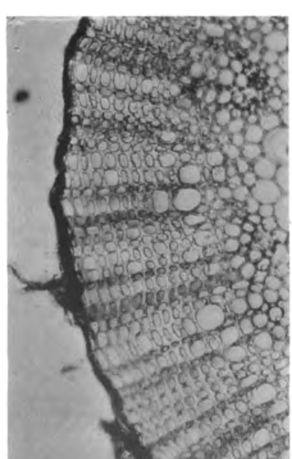

3.

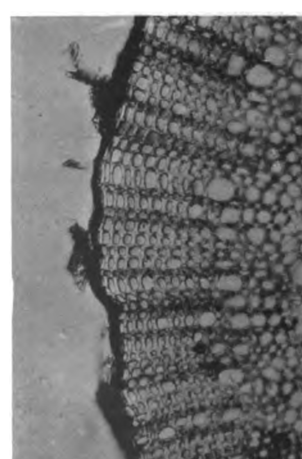

4.


5.


6.


7.


8.


9.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

der unter diesen Bedingungen erhaltenen, mit Alkohol fällbaren Substanzen keine vollständige war. Ich versuchte, dieselben Leinstrohproben noch zweimal in derselben Weise zu bearbeiten und jedesmal bildete sich nach Alkoholzusatz ein, wenn auch weniger reichlicher, Niederschlag. Wie groß jedoch auch immer der absolute Xylangehalt sein mag, so unterliegt es doch keinem Zweifel, daß derselbe in sämtlichen drei Leinstrohproben ein ungefähr gleicher war.

Tafelerklärung.

Phot. 1. Kontrollversuch. Färbung zuerst mit Grenachers Alaunkarmin, nachher mit angesäuertem Methylgrün. Vergr. 1 × 50.
Phot. 2. Kontrollversuch. Färbung mit Biondischem Dreifarbengemisch, zur Hälfte mit Glycerin verdünnt. Vergr. 1 × 125.
Phot. 3. Kontrollversuch. Färbung wie 1. Vergr. 1 × 300.
Phot. 4. Rösteversuch. Färbung wie 2. Vergr. 1 × 125.
Phot. 5. „ Ungefärbtes Präparat. Vergr. 1 × 300.
Phot. 6. „ Färbung wie 1. Vergr. 1 × 300.
Phot. 7. Cellulosegärungsversuch. Färbung wie 2. Vergr. 1 × 50.
Phot. 8 u. 9. „ Färbung wie 2. Vergr. 1 × 125.

Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen.

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur, unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen.][1]

Von Dr. **Berthold Heinze** in Halle a. S.

Kapitel I.

Einleitung und allgemeine Literaturangaben.

Das Glykogen ist bekanntlich zuerst im Jahre 1855 von Cl. Bernard[2]) und fast gleichzeitig von Hensen[3]) in der Leber aufgefunden worden und stellt ein Kohlehydrat vor, welches dem Dextrin und der Stärke nahesteht: diese von Bernard als „matière glycogène" oder von den Deutschen kurzweg als Glykogen (Zuckerbildner) bezeichnete Substanz ist ein Körper, welcher nach den bisherigen Mitteilungen eine Mittelstellung zwischen Stärke und Fett einnimmt und wegen seines Vorkommens in tierischen Organen (Leber, Lunge) wie auch im Fleische, Blute etc. auch als „tierische Stärke" bezeichnet worden ist. Sehr genau ist

---

1) Anmerkung: Diese Beobachtungen und Untersuchungen sind vom Verf. z. T. schon während seiner Tätigkeit an der landw. Versuchsstation in Colmar i. E. gemacht worden, z. T. jedoch erst während seiner Tätigkeit an der hiesigen landw. Versuchsstation.

2) Claude Bernard, Sur le mécanisme de la formation du sucre dans le foie. (Compt. rend. T. XLI. 1855. p. 461 und T. XLIV. 1857. p. 578.) — Die folgenden Angaben sind im allgemeinen nach B. Tollens, Handbuch der Kohlehydrate, I. u. II. Teil, sowie nach Lafar's Technischer Mykologie citiert.

3) Hensen, ebenso: Virch. Arch. f. pathol. Anat. Bd. XI. p. 395.

alsdann das Glykogen von Brücke[1]), Külz[2]) und vielen anderen Physiologen und Chemikern, insbesondere wegen seiner Wichtigkeit für die Lehre des Diabetes studiert worden. — Im Stoffwechsel der höheren Tiere wie auch des Menschen ist ja eine der wichtigsten Erscheinungen die in der Leber vor sich gehende Bildung von Zucker. Dieser letztere entsteht nun in der Leber aus der soeben kurz gekennzeichneten Substanz als ein in ihren wichtigsten Merkmalen der pflanzlichen Stärke — Amylum — ähnliches Kohlehydrat, wie durch zahlreiche frühere und spätere Untersuchungen festgestellt werden konnte. (Vergl. hierzu sowie zu den folgenden Angaben auch die Mitteilungen von R. Tollens, F. Lafar, A. Fischer und P. Lindner. S. später angeführte Literatur.)

A. Allgemeines Vorkommen des Glykogens im Tier- und Pflanzenreiche.

Das Glykogen wird nun in der Leber des gesunden Organismus vor allem dann aufgespeichert, wenn stärkehaltige Nahrung genossen wird, aber auch nach Eingang von anderen Kohlehydraten, wie beispielsweise Rohrzucker, Milchzucker, Glukosen, sowie beim Genusse von Glycerin[3]) findet nach v. Mehring[4]), Külz[5]) u. a. eine Zunahme des Leberglykogens statt, hingegen nicht beim Genusse von Inosit, Erythrit, Quercit[8]) (vergl. hierzu auch speziell: B. Tollens, Handbuch der Kohlehydrate. Breslau 1898. Bd. I. p. 196).

Weiterhin findet sich das Glykogen besonders in den Muskeln, dessen Gehalt ungefähr 0,6—0,7 Proz. beträgt, vor, sowie in geringer Menge auch in den verschiedensten Organen des menschlichen Körpers wie auch des Körpers der höheren Tiere; im übrigen trifft man das Glykogen bereits während der embryonalen Entwickelung des Organismus an.

Auch in den Austern und anderen Mollusken[6]) u. s. w. ist das Glykogen oftmals in gar nicht unbeträchtlichen Mengen enthalten; so enthielt beispielsweise Cardium edule nach den vorliegenden Mitteilungen ca. 14 Proz. der Trockensubstanz an Glykogen.

Dieser Körper soll alsdann ganz oder teilweise bei der Arbeit oder beim Hungern[7]) wieder aus den Muskeln verschwinden, wodurch die später noch zu erörternde reservestoffartige Natur des Glykogens schon bewiesen sein dürfte.

Alsdann mögen über das Vorkommen des Glykogens im Tierreiche noch folgende Angaben (nach B. Tollens) nicht unerwähnt

---

1) Brücke, Fres. Zeitschr. Bd. X. p. 500.
2) Külz, Berl. Ber. Bd. XIV. p. 274.
3) Luchsinger, Jahresber. f. Tierchemie. 1873. p. 194.
4) v. Mehring, Pflügers Arch. Bd. XIV. p. 274. bezw. Jahresber. f. Tierchemie. Bd. VI. p. 204.
5) Külz, Berl. Ber, Bd. XIV. p. 369.
6) Bizio, Zeitschr. f. Chemie. 1886. p. 222. — Chittenden, Ann. d. Chemie. Bd. CLXXVIII. p. 266.
7) Cf. u. a. Luchsinger, Jahresber. f. Tierchemie. 1878. p. 56.

bleiben, da sie immerhin ganz interessant und manchen wertvollen Beitrag zur Glykogenfrage liefern. Huppert[1]) fand es regelmäßig im Blute, wie oben schon kurz erwähnt wurde, wenn auch nur in sehr geringen Mengen; auffallend mehr Glykogen konnte indessen von ihm im Eiter nachgewiesen werden. In gleicher Weise fanden es im Eiter Salomon, Kühne, Jaffe[2]), Cramer[3]); letzterer suchte das Glykogen auch im Knorpel, Gehirn, in den Muskeln etc. zu bestimmen.

Obendrein soll nach Kemmerich[4]) südamerikanischer Fleischextrakt 1—1,5 Proz. Glykogen enthalten.

Weiterhin ist in der Leber von neugeborenen Hunden nach Demant[5]) oftmals reichlich Glykogen (bis zu 11 Proz.) gefunden worden.

In einer besonderen Tabelle werden von H. Girard[6]) recht interessante Befunde über den von ihm gefundenen Gehalt an Zucker und Glykogen in Stücken derselben Leber zu verschiedenen Zeiten nach dem Tode angegeben, z. B.:

Tierart	nach 10 Minuten		nach 24 Stunden		nach 48 Stunden	
	Zucker	Glykogen	Zucker	Glykogen	Zucker	Glykogen
Kaninchenleber	0,75 Proz.	9,56 Proz.	3,58 Proz.	6,35 Proz.	3,85 Proz.	4,28 Proz.

Ueber das Glykogen vieler Organe, wie auch von Embryonen etc. sind von Saake[7]) verschiedene Angaben gemacht worden.

In ganz frischer Herzmuskelsubstanz von Hunden ist nach Borrutau[8]) 0,25—0,5 Proz. Glykogen enthalten.

Sehr viele Angaben sind alsdann von Külz[9]) und seinen Mitarbeitern über den Glykogengehalt verschiedener Stoffe gemacht worden.

Nach Kaufmann[10]) enthält das Blut gesunder Tiere stets kleine Mengen Glykogen (im Maximum etwa 2,5 mg im Liter); im Liter Blut von durch Pankreasexstirpierung diabetisch gemachten Tieren konnten jedoch weit größere Mengen (bis zu 500 mg) Glykogen nachgewiesen werden.

Nach den gemachten Ausführungen dürfte also das Glykogen im Tierreiche außerordentlich weit verbreitet sein und in Bezug auf die Entwickelung des gesamten Organismus eine bedeutsame, wenn auch relativ noch wenig aufgeklärte Rolle spielen.

---

1) Huppert, Ueber Glykogen. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XVIII. p. 137. 144.)
2) S. die Angaben in der vorigen Arbeit.
3) Cramer, Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIV. p. 67.
4) Kemmerich, Centralbl f. Agrikulturchemie. Bd. XXIII. p. 176.
5) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XI. p. 142.
6) Girard, H., Pflügers Arch. Bd. XLI. p. 294.
7) Saake, Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIX. p. 428.
8) Borrutau, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XVIII. p. 513.
9) Külz, Zeitschr. f. Biol., Bd. XXII. p. 191. Festschrift Marburg, in derselben viele Zitate.
10) Kaufmann, Compt. rend. T. CXX. p. 567.

Mehrfach ist alsdann das Glykogen (wie übrigens später nachgewiesen werden konnte, als vollständig identisch mit dem tierischen) auch im Pflanzenreiche aufgefunden worden, wenn es auch nach den bisherigen Beobachtungen anscheinend in diesem nicht die weite und fast allgemeine Verbreitung wie im Tierreiche hat. Möglicherweise spielt es aber nach der Ansicht des Verf. im gesamten Pflanzenreiche, insbesondere auch bei den niedrigsten pflanzlichen Organismen, den verschiedensten Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefen, Schimmelpilzen insofern eine größere Rolle, als man diesen Körper als eine sehr labile Substanz anzusehen hat, als sogenanntes intermediäres Produkt bei der Bildung von Fett und Säuren aus Kohlehydraten (z. B. Traubenzucker und Stärke [Granulose]) bezw. auch umgekehrt unter geeigneten Bedingungen bei der Bildung von Kohlehydraten (Zucker und Granulose) aus Fetten oder fettartigen Substanzen.

Neben anderen Reaktionen und Merkmalen zum Nachweise des Glykogens (s. später) ist bekanntlich die durch Jodjodkaliumlösung hervorgerufene Rotbraunfärbung äußerst charakteristisch und es mag deshalb nicht unerwähnt bleiben, daß das Eintreten einer solchen Färbung schon vier Jahre vor den Mitteilungen von Bernard durch R. L. Tulasne[1]) auch an den jungen Asken der Trüffelknollen und einige Jahre später[2]) auch an denjenigen von Erysiphe aceris de Candolle, einer Art aus der Gruppe der Mehltaupilze, beobachtet werden konnte. Wie schon F. Lafar[3]) in seinem ausgezeichneten Werke der technischen Mykologie besonders betont, scheint sich jedoch Tulasne auf die von seinen medizinischen Akademiekollegen gemachte Beobachtung nicht weiter besonnen zu haben, sonst würde er sich wohl schwerlich mit der kurz geäußerten Vermutung begnügt haben, daß man es hier mit einer jodgierigen Eiweißart zu tun haben dürfte. Wie auch Lafar weiterhin erwähnt, hat als nächster Forscher auf diesem Gebiete, A. de Bary[4]), im Jahre 1863 unsere Einsicht vor allem nach der botanischen Seite durch die überaus wichtige Feststellung vertieft, daß die fragliche Substanz sich nicht an allen Stellen des Protoplasmas vorfindet, sondern lediglich in einem beschränkten Teile, für welchen von ihm der Name „Epiplasma“ vorgeschlagen wurde. Auch ist von ihm bereits die Vermutung ausgesprochen worden, daß die fragliche Substanz ein Kohlehydrat sei.

Einige Jahre später gibt W. Kühne[5]) an, daß die „matière glycogène“ oder das Glykogen, wie es von den Deutschen nunmehr genannt wurde, in der Lohblüte, dem Aethalium septicum, sich vorfindet.

1) Tulasne, Fungi hypogaei. Paris 1851.
2) Derselbe, Selecta fungorum carpologia. Paris 1861.
3) Lafar, F., Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturtechniker, Pharmazeuten und Landwirte. Bd. II. Jena 1903. p. 508.
4) de Bâry, A., Ueber die Fruchtentwickelung der Askomyceten. Leipzig 1863.
5) Kühne, W., Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1868. p. 334.

Hiermit war freilich noch kein strenger Beweis für das Auftreten von Glykogen in den Pilzen selbst erbracht worden, denn dieses letztgenannte Lebewesen gehört ja bekanntermaßen zu den Mycetozoen, also nicht in das Reich der Pilze, sondern in ein Bindeglied zwischen diesen und den niederen Tieren.

Das Vorkommen von Glykogen war demnach bis dahin für Pflanzenzellen überhaupt, wie auch vor allem für Pilze, noch keineswegs streng erwiesen; und es konnte also der ihm inzwischen zuerteilte Beiname der „tierischen Stärke“ noch uneingeschränkt in Geltung bleiben.

Erst längere Zeit später, und zwar im Jahre 1882, wies L. Errera [1]), welcher in A. de Barys Laboratorium tätig war, durch umfangreichere Untersuchungen nach, daß der wesentliche und hauptsächlichste Bestandteil des Epiplasmas der Pilze ein Kohlehydrat ist, welches in jeder von den durch ihre auf mikrochemischem Wege geprüften Eigenschaften mit dem Glykogen der Tiere übereinstimmt; auch konnte er dessen weite Verbreitung nicht nur in der zunächst untersuchten Klasse der Askomyceten, sondern späterhin auch in der den Basidiomyceten und bei den Mucoraceen nachweisen. Ferner ist auch von Stüde [2]) eine mit Jod sich violett färbende Schleimsubstanz glykogener Natur aus strauchartigen Flechten — Evernia prunastri — abgeschieden worden. Nach meiner Ansicht dürfte es sich hier jedoch lediglich um sogenannte Granulose gehandelt haben, welche allerdings bei weiterer Entwickelung der Flechten unter geeigneten Bedingungen zum Teil sehr wohl in Glykogen über geführt werden dürfte; wenigstens sprechen anderweitige Beobachtungen des Verf. sehr für diese Annahme.

Im übrigen haben die Ausführungen von Errera seitens mehrerer Forscher Bestätigung finden können, wie z. B. von Krafkoff [3]), und späterhin von E. Laurent [4]), welcher dieses

---

1) Errera, L., L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. [Thèse d'agréation.] Bruxelles 1882. — Sur le glycogène chez les Mucorniées. (Bulletin de l'Académie Royale de Belgique. 1882. Sér. 3. T. IV. p. 451.) — Sur le glycogène chez les Basidiomycètes. (Mémoires de l'Académie Royale de Belgique; Collection in 8°. T. XXXVII. 1885; ebenso Botanische Zeit. Bd. XLIV. 1886. p. 200 u. 316.) — Sur l'existence du glycogène dans la levure de bière. (Compt. rend. T. CI. p. 253; ebenso Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. VIII. 1885. p. 333; ebenso Chem. Centralbl. 1585. p. 685. Referate.) — Les reserves hydrocarbonées des Champignons. (Compt. rend. T. CI. 1885. p. 391; Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. VII. 1885. p. 369. Referat.) — Anhäufung und Verbrauch von Glykogen bei Pilzen. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. V. 1887. p. 500; Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XI. 1888. p. 37. Referat.)

2) Stüde, Ann. d. Chemie. Bd. CXXXI. p. 242.

3) Krafkoff, Zur Frage vom Glykogen der Pilze. (Scripta botanica horti universitatis Imperialis Petropolitanae. T. III. Fasc. I. p. 17.)

4) Laurent, E., Etudes biologiques; Première partie; Recherches physiologiques sur les levures. (Annales de la Société belge de Microscopie. T. XIV. p. 29; Kochs Jahresber. über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Bd. I. p. 54. Referat.) — Recherches sur le polymorphisme du Cladosporium herbarum. (Annales de l'Institut Pasteur. Bd. II. 1888. p. 603. — Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la levure de bière. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888. p. 103; Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. 1889. p. 794. Referat.)

Kohlehydrat auch bei Oïdium lactis, in den Konidien des Cladosporium herbarum, sowie in verschiedenen vorgen. Rosahefen angetroffen hat.

Ueberhaupt sind es die Hefen, welche späterhin unter allen Pilzen verhältnismäßig am genauesten auf den Gehalt von Glykogen untersucht worden sind und an denen man die überaus wichtige Bedeutung dieses Kohlehydrates für den Stoffwechsel eingehender darzulegen versucht hat. Aber auch bei manchen Bakterien hat ein mehr oder weniger hoher Glykogengehalt schon nachgewiesen werden können. Ueber die Bildung dieser Substanz durch Mikroorganismen soll indessen erst später das Nähere erörtert und zunächst über das Glykogen selbst, seine Gewinnung, seine Eigenschaften und sein Verhalten etc. noch einiges gesagt werden.

B. Ueber die Gewinnung des Glykogens.

Nach B. Tollens[1]), E. Schmidt[2]), Schorlemer-Roscoe[3]) bezw. nach Brücke[4]) gewinnt man das Glykogen zunächst wohl am besten auf folgende Weise: Die möglichst frische Leber (am besten von einem unmittelbar vorher getöteten, vor allem gut gefütterten Tiere — Kaninchen, Hunden oder Kälbern — wird zerhackt, mit Wasser und Sand in einem heißen Mörser zerrieben, mit Wasser verschiedentlich ausgekocht und die so gewonnenen Auszüge, um N-haltige Bestandteile abzuscheiden, abwechselnd mit einer Lösung von Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure versetzt, so lange noch ein Niederschlag entsteht. Aus dem Filtrat fällt man das Glykogen durch Alkohol aus und wäscht es zunächst mit 60-proz. Alkohol, dann mit solchem von 95 Proz. und schließlich mit Aether aus. Zur besseren Reinigung kann man es natürlich auch noch wiederholt in Wasser lösen, dem man etwas Essigsäure oder Salzsäure zusetzt und es alsdann mit Alkohol wieder ausfällen. Da übrigens kochendes Wasser das Glykogen nur langsam auszieht bezw. wieder in Lösung bringt, so wendet man besser nach Wittich[5]) verdünnte Kalilauge an, und behandelt den mit Salzsäure neutralisierten Auszug wie oben angegeben worden ist. Uebrigens kann man aus der neutralen Lösung die N-haltigen Bestandteile nach Abeles[6]) auch durch Kochen mit Zinkchlorid abscheiden, welches Glykogen nicht angreift.

Wie auch Lafar in seinem oben angeführten Buche schon mitteilt, ist alsdann die Gewinnung und Abscheidung des Glykogens der Pilze auf makrochemischem Wege wohl zuerst von

1) Tollens, B., Handbuch der Kohlehydrate. Bd. I. 1898. p. 197.
2) Schmidt, E., Ausführliches Lehrbuch der pharmazeut. Chemie. Bd. II. 1896. p. 808.
3) Roscoe-Schorlemer, Lehrbuch der Chemie. Bd. III. 1884. p. 1122.
4) Brücke, Siehe unter 3) genanntes Lehrbuch. p. 1122. bezw. Jahresber. 1871. p. 843.
5) Wittich, s. ebenda bezw. Zeitschrift f. analyt. Chemie. Bd. XIV. p. 227.
6) Abeles, s. ebenda bezw. Zeitschrift f. analyt. Chemie. Bd. XVII. p. 500.

Errera[1]) mit Erfolg versucht worden; indessen waren die erhaltenen Mengen für den Bedarf einer genaueren makrochemischen Untersuchung nicht ausreichend. Derartige Mengen sich zu verschaffen, gelang erst M. Cremer[2]) im Jahre 1894, welche nunmehr auch feststellen konnte, daß das Glykogen der Hefe mit jenem der tierischen Leber übereinstimmt, und zwar nicht bloß in seinen allgemeinen Eigenschaften, sondern auch in Hinsicht auf seinen Widerstand gegenüber Fehlingscher Lösung, und sein Verhalten bei der Hydrolyse (s. folgendes Kapitel). Cremer kochte glykogenreiche Hefe (und zwar Bierhefe) eine Minute lang auf und behandelte eine Portion mit Wasser, eine mit filtriertem Mundspeichel und eine mit Diastase. Alle Portionen wurden mit Chloroform einige Tage bei 28° C gehalten: es konnte alsdann nur in der ersten Portion Glykogen mit Jodjodkalium nachgewiesen werden. Auf diese Weise läßt sich das Glykogen in mikroskopischen Präparaten sehr gut identifizieren. Im übrigen konnte Cremer in ähnlicher Weise wie nach dem oben angeführten Verfahren von Brücke bei der Darstellung von Glykogen aus der Tierleber aus 250 g trockener Hefe ca. 13 g Glykogen gewinnen, d. i. also ungefähr 0,5 Proz.

C. Eigenschaften, Verhalten und etwaige chemische Konstitution des Glykogens.

Das Glykogen hat nach Bizio[3]) u. a. wahrscheinlich die Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5 + H_2O$ bezw. $C_{12}H_{20}O_{10} + H_2O$ und soll nach Kékulé[4]) bei 100° C wasserfrei werden. Auch werden natürlich verschiedentlich andere Formeln für seine Zusammensetzung angegeben. Es ist ein farbloses, über (Chlorcalcium getrocknet) amorphes Pulver, welches sich in kaltem Wasser nur sehr schwer, in warmem Wasser jedoch ziemlich leicht löst und aus seiner wässerigen Lösung durch Alkohol wieder niedergeschlagen wird; dies ist jedoch um so schwerer, je reiner das gewonnene Produkt ist und völlig aschenfreies Glykogen wird nach Külz[5]) ziemlich vollständig nur dann durch Alkohol wieder ausgefällt, wenn man gleichzeitig etwas Kochsalz zusetzt.

Nach Pelonze[6]) wird es auch durch starke Essigsäure und nach Abeles[7]) durch Kochen mit Chlorzink in kaum alkalischer Lösung wieder gefällt (s. auch oben). Als charakteristische Eigenschaften des Glykogens sind hauptsächlich die folgenden drei zu nennen:

1) Errera, L'épiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. [Thèse.] Bruxelles 1882.

2) Cremer, M., Demonstration des Hefeglykogens in den Zellen. (Münch. medizinische Wochenschrift. 1894. No. 26; Chemisches Centralbl. Bd. II. p. 245; Kochs Jahresber. Bd. V. p. 113, Referate; s. auch Sitzungsber. d. Ges. f. Morphologie zu München. 1894. Heft 1.)

3) Bizio, Zeitschrift f. Chemie. 1866. p. 222.

4) Kékulé, Jahresber. 1868. p. 580.

5) Külz, Berl. Ber. Bd. XV. p. 1300.

6) Pelouze, Journal f. prakt. Chemie. Bd. LXXIII. p. 249.

7) Abeles, Jahresber. f. Tierchemie. 1881. p. 58.

1) Die Lösungen desselben sind nicht klar, sondern immer opalisierend; Kali wie auch verdünnte Essigsäure wirken indessen klärend auf die milchig getrübte Lösung ein.

2) Die Lösungen färben sich mit Jod (nach Errera u. a. am besten mit Lösungen von Jod in Jodkalium) rot bis braun. Diese Färbung verschwindet in ähnlicher Weise wie bei der Jodstärkereaktion beim Erhitzen und beim Zusatze von Stoffen, welche wie Alkalien etc. die schwache Verwandtschaft zerstören.

3) Die Lösungen des Glykogens sind sehr stark rechtsdrehend; in einer Verdünnung von 0,6 Proz., welche das Polarisieren zuläßt, ist $(\alpha)_D$ nach Külz[5]) = 211°, nach Landwehr = 213,3°, demnach ein weniger stärker als Amylodextrin. Das optische Drehungsvermögen des Hefenglykogens ist allerdings nach Cremer[2]) ein wenig geringer gefunden worden als das des tierischen Glykogens, nämlich $(\alpha)_D$ = + 198,9°. Uebrigens finden sich in der Literatur beträchtlich höhere Werte (bis zu 235°) für ersteres. Der Grund für die immerhin beträchtlichen Schwankungen ist wohl in erster Linie in der ganzen Bestimmungsmethode bezw. in der verschiedenen Reinheit des betreffenden Untersuchungsmateriales zu suchen.

Im übrigen werden die Lösungen des Glykogens durch Alkohol, und zwar am besten durch Verwendung von 2 Teilen absoluten Alkohols auf 1 Teil Glykogenlösung ausgefällt.

In Bezug auf die Zusammensetzung und die etwaige chemische Konstitution kann man das Glykogen nahe dem Amylodextrin einreihen und würde alsdann die erste Umwandlung desselben, wodurch auch seine Opalescenz bereits verschwinden dürfte, die Ueberführung in Erythrodextrin sein, woran sich schließlich die Umwandlung des letzteren in Achroodextrin und Maltose bezw. in Dextrose anschließt. Das Glykogen ist wahrscheinlich als ein Anhydrid des Traubenzuckers aufzufassen. (Siehe auch später.)

Ueber die speziellen Zersetzungen des Glykogens ist zunächst noch zu erwähnen, daß beim Erhitzen mit Wasser auf 150—160° C gärungsfähiger Zucker sich aus demselben bildet; ebenso wird durch Erwärmen mit verdünnten Säuren das Glykogen zuerst seiner Opalescenz, sowie der Jodreaktion beraubt und die erhaltene Flüssigkeit zeigt gar bald die Fähigkeit, Fehlingsche Lösung zu reduzieren; die Eigenschaft, durch Alkohol gefällt zu werden, bleibt dabei noch ziemlich lange bestehen.

Das Glykogen wird auf diese Weise in Dextrin, und zwar in Glykogendextrin, Achrooglykogen verwandelt, welches nach Böhm und Hofmann[1]) dieselbe Drehung wie Glykogen besitzen soll. Gleichzeitig entstehen wohl auch schon geringe Maltosemengen und schließlich durch weitere Säurebehandlung Traubenzucker.

In ähnlicher Weise wirken sämtliche diastatischen Fermente, insbesondere aber die Malzdiastase, ferner aber auch

1) Böhm und Hofmann, Cf. Jahresber. f. Tierchemie. 1879. p. 49.

Fermente aus Leber, Pankreas, Blut, Speichel etc. umwandelnd auf das Glykogen ein, wie unter anderen von Seegen[1]), Böhm und Hofmann[2]), Nasse[3]), Musculus und Mering[4]), ferner auch von Ebstein[5]) festgestellt werden konnte.

Hieraus geht übrigens hervor, daß man teilweise an Stelle von reinem Glykogen mehr oder weniger dextrinhaltiges oder auch wenig durch Alkohol fällbares, wohl aber Maltose oder Dextrose erhalten kann, wenn man die Leber oder die Muskeln, aus denen man Glykogen gerade zu gewinnen sucht, nicht vollständig frisch verwendet.

Uebrigens ist von Külz[6]) nachgewiesen worden, daß nach 24 Stunden nach dem Tode oder auch noch länger die Leber Glykogenreaktion gibt und mit verdünnten Säuren oder auch schon mit CO_2 in Berührung das Glykogen sich recht lange, wenigstens teilweise unzersetzt selbst in der Leber halten soll.

Dieser Einfluß der Kohlensäure dürfte gar nicht unwichtig sein, weil er die geringe Umsetzung des Glykogens im gesunden Körper bedingt. In pathologischer Beziehung kann man schließlich die gesteigerte Zuckerabscheidung, welche beim Diabetes mellitus im Harn eintritt, durch relative Verminderung der CO_2 in den Geweben verstehen, indem in derartigen Fällen der Einfluß der diastischen Fermente auf das Glykogen nicht genügend reguliert wird[7]).

Daß Limprecht[8]) aus Pferdefleisch Dextrin erhielt, mag vielleicht darauf beruhen, daß das ursprünglich vorhanden gewesene Glykogen sich bereits umgesetzt hatte.

Weiterhin ist der in der totenstarren Leber aufgefundene Zucker nach Seegen und Kratschmer[9]), Külz[10]) nichts anderes als Dextrose, während nach Mitteilungen von Musculus und Mering[11]) auch daneben noch Maltose vorkommen soll.

Durch Salpetersäure wird Glykogen oxydiert und bildet unter anderem Oxalsäure, aller Wahrscheinlichkeit nach aus Zuckersäure etc.

Brom und Silberoxyd liefern nach Mitteilungen von Chittenden[12]) Glykogensäure, welche vielleicht mit Glykonsäure identisch ist. Ueber die besonderen Verbindungen des Glykogens

---

1) Seegen, Jahresber. f. Tierchemie. 1879. p. 47.
2) Böhm und Hofmann, s. ebenda wie unter 1) angegeben.
3) Nasse, O., Pflügers Archiv. Bd. XIV. p. 473.
4) Musculus und Mering, Berliner Berichte. Bd. XII. p. 700.
5) Ebstein, W., Die Zuckerharnruhr, ihre Theorie und Praxis, Wiesbaden 1887.
6) Külz, Zeitschrift f. Biologie. Bd. XXII. p. 161.
7) Ebstein, W., Die Zuckerharnruhr, ihre Theorie und Praxis. Wiesbaden 1887.
8) Limprecht, Annalen der Chemie. Bd. CXXXIII. p. 297.
9) Seegen und Kratschmer, Pflügers Archiv. Bd. XX. p. 206; ebenda Bd. XXIV. p. 52.
10) Külz, Jahresber. f. Tierchemie. 1880. p. 82.
11) Musculus und Mering, Berliner Ber. Bd. XII. p. 700.
12) Chittenden, Annalen d. Chemie. Bd. CLXXXII. p. 206.

mit Salpetersäure, Essigsäureanhydrit, Barytwasser, Bleiessig, Gerbsäure etc. mag das Nähere in Tollens Handbuch der Kohlehydrate selbst nachgesehen werden (s. p. 200).

Im Anschluß an die eben erörterte qualitative Bestimmung des Glykogens mag jedoch nunmehr auch noch dessen quantitative Bestimmung kurz erwähnt werden, wie sie neben anderen Autoren vorwiegend von Külz [1]) und Salomon [2]) näher ausgebaut worden ist.

Nach diesen Forschern fällt man die durch abwechselnden Zusatz von Salzsäure und Jodquecksilberjodkalium oder auch mit Hilfe von essigsaurem Zink oder Chlorzink gereinigten, wässerigen bezw. mittelst Kali bereiteten Auszüge des Glykogens mit 2 Vol. absoluten Alkohols, filtriert, wäscht darauf mit Alkohol, später mit Aether aus, trocknet bei 100° C und wägt die gewonnene Substanzenmenge; man kann aber auch die Drehung der Polarisationsebene bestimmen und auf $(\alpha)_D = 211^\circ$ berechnen.

Kapitel II.

Ueber die Bildung von Glykogen durch verschiedene Organismen pflanzlicher Natur.

Wie im vorigen Abschnitte bereits in aller Kürze erwähnt wurde, ist das Glykogen bisher nicht nur in verschiedenen höheren Pilzen, sondern auch in mancherlei Mikroorganismen, wie Schimmelpilzen, Hefen und selbst in Bakterien aufgefunden worden; über seine Gewinnung, seinen Nachweis und sein Verhalten liegen auch schon vielerlei Untersuchungen, insbesondere für die außerordentlich wichtigen Pilze der Gärungsgewerbe, die Hefen, vor; schließlich ist vor allem auch den Glykogen bildenden Stoffen, wie Zucker, Amiden, Eiweißkörpern durch zahlreiche und z. T. eingehendere Untersuchungen Beachtung geschenkt worden.

A. Ueber das Vorkommen des Glykogens im Pflanzenreiche.

Soweit dem Verf. die diesbezügliche Literatur bekannt geworden ist, hat man das Glykogen in folgenden Pilzen und Mikroorganismen in mehr oder weniger großen Mengen nachweisen können; zuweilen hat man geradezu eine außerordentlich große Glykogenmenge im Vergleich zum Frischgewicht bezw. Trockengewicht der Organismensubstanzen festgestellt; es sind also bisher glykogenhaltig befunden worden:

1) Tuber aestivum, brumale etc., und zwar die jungen Asci der Trüffelknollen;
2) Claviceps purpurea, Mutterkorn;
3) Clitocybe nebularis; Coprinus niveus;
4) Phallus impudicus, Giftmorchel;

---

1) Külz, Zeitschrift f. Biologie. Bd. XXII. p. 161.
2) Salomon, Fresenius Zeitschrift. Bd. XIII. p. 470.

5) Boletus edulis, eßbarer Steinpilz;
6) Amanita muscaria, Fliegenschwamm;
7) Sphaerobolus sternatus, sternförmiger Kugelschleuderer;
8) Oidium lactis, Milchschimmel;
9) Cladosporium herbarum;
10) Erysiphe aceris; späterhin konnte überhaupt die weite Verbreitung des Glykogens in der Gruppe der
11) Askomyceten;
12) Basidiomyceten, sowie auch der
13) Mucoraceen nachgewiesen werden;
14) Evernia prunastri, eine sogenannte Strauchflechte;
15) Saccharomyces cerevisiae, Bierhefe;
16) Saccharomyces ellipsoideus II., Weinhefe;
17) Saccharomyces lactis, sogenannte Milchzucker vergärende Hefen bezw. Torula-Formen [1]);
18) Bacillus subtilis, Heubacillus, Bac. megatherium;
19) Bacillus coli commune;
20) Bacillus granulobacter [2]);
21) Bacillus lactis aërogenes.

---

1) Anmerkung: Bei einer nachträglichen Prüfung zweier von E. Cohn und dem Verf.[1]) vor einiger Zeit in anderer Hinsicht etwas näher untersuchten Milchzucker direkt vergärender Sproßpilze — sogenannter Torula-Formen (Torula lactis Adametz und Torula Tyrocola Beijerinck) — konnte Verf. unter Umständen in ähnlicher Weise wie bei den echten gewöhnlichen Saccharomyceten sehr reichliche Glykogenbildung beobachten, und zwar besonders auffallend in jungen Sproßpilzkulturen auf schwach saurer Würzegelatine.)

2) Anmerkung. Bei den verschiedensten sogenannten Granulosebakterien, wozu auch manche Buttersäurebakterien gehören, scheint man mit Jodjodkalium im allgemeinen immer nur eine äußerst intensive bläuliche bis tiefschwarzviolette Färbung beobachten zu können, indem in gewissen Entwickelungsstadien meist der ganze Organismeninhalt gefärbt erscheint. Der Stoff, welcher diese Reaktion gibt, ist noch nicht genau bekannt und wird als Granulose bezeichnet, weil er sich bekanntlich genau so färbt wie der gleichnamige Bestandteil der Stärkekörner und dürfte zweifellos ein Polysaccharid von der Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)n$ sein. Man kann den Stoff durch verdünnte Schwefelsäure herauslösen und verzuckern; in ähnlicher Weise kann er durch Speichelfermente (Ptyalin) und auch durch Pflanzendiastase gelöst werden. Allem Anscheine nach müssen den hier in Betracht kommenden Organismen erst lösliche Kohlenhydrate zur Bildung von Granulose geboten werden. Im übrigen wird er auf Grund von eingehenderen diesbezüglichen Untersuchungen zunächst in winzigen Körnchen aufgespeichert, so daß die mit Jod gelb gefärbten Bakterien fein schwarz punktiert erscheinen; späterhin wachsen die Körnchen beträchtlich heran und endlich scheint sich der Stoff mehr gleichmäßig über den ganzen Inhalt zu verteilen, welcher jetzt durchweg blau oder violett sich färbt. Mehr oder weniger abweichend verhalten sich allerdings die teilweise zu den Granuloseorganismen gehörenden Buttersäurebakterien (cf. A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 16). Wie nun neben anderen Autoren der Verf. selbst schon verschiedentlich bei seinen seit einiger Zeit in Angriff genommenen bodenbakteriologischen Untersuchungen beobachten konnte, so scheint sich bei vielen Granulosebakterien (wenn nicht bei allen) unter veränderten Kulturbedingungen, zumal bei älteren Kulturen, auch Glykogen, wenn auch meist nicht sonderlich reichlich, zu bilden, so daß nach der

---

1) Heinze, B. und Cohn, E., Ueber Milchzuckervergärende Sproßpilze. Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. 1904. Heft 3.)

In Bezug auf die vorstehenden Angaben über das Vorkommen von Glykogen im Pflanzenreiche, insbesondere über seine Bildung durch Mikroorganismen wolle man unter anderem auch die diesbezüglichen Mitteilungen von Zopf[1]), de Bary[2]), Lafar[3]) und A. Fischer[4]) vergleichen. Darnach scheint das Glykogen auch im Pflanzenreiche, speziell im Pilzreiche, im allgemeinen eine größere Verbreitung zu haben, als man vielleicht vielfach angenommen hat; wenigstens hat man es sowohl in Mycelien als auch in allerhand Fruktifikationsorganen von Repräsentanten verschiedener Gruppen gefunden, wie beispielsweise der Kopfschimmel (Mucorineen), der Schlauchpilze (Ascomyceten) sowie bei nicht weniger als 31 Basidiomyceten. Im übrigen waren bisher die Schläuche der Trüffeln und Becherpilze auffallend reich an Glykogen befunden worden. Wie im ersten Kapitel schon kurz erwähnt wurde, hat de Bary[2]) zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß in den Schläuchen von Becherpilzen ein stark lichtbrechendes Plasma vorkommt, welches mit Jodjodkalium eine schöne rotbraune Färbung annimmt, welches aber keineswegs an allen Stellen des Plasmas sich vorfindet, sondern nur in einem beschränkten Teile desselben; er nannte jene Substanz zunächst Epiplasma, welche sich später als identisch mit dem mit Glykogen getränkten Plasma Erreras erwies. Uebrigens fand auch de Bary[5]) später bei Sclerotinia sclerotiorium Libert[6]) das Glykogen nur in bereits recht kräftig entwickelten Mycelzellen vor, während es in den Endzellen

Ansicht des Verf. die Granulose ev. lediglich als intermediäres Produkt bei der Bildung von Glykogen aus Dextrose aufzufassen wäre. Nähere Untersuchungen über die verschiedenen Granulosebakterien konnten vom Verf. noch nicht vorgenommen, insbesondere auch die Frage noch nicht eingehender geprüft werden, ob man es bei den genannten Organismen nach Beijerinck (cf. Bakt. Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.) tatsächlich mit stickstoffsammelnden Mikroorganismen zu tun hat, soweit man nämlich von den bekannten Clostridium-Formen absieht. Es mag jedoch erwähnt werden, daß zuweilen eine außerordentlich reichliche Granulosebakterienvegetation vom Verf. in Kulturen angetroffen werden konnte, welche mit Kleeboden, Kartoffelboden (seltner mit Brachboden) von Lauchstädt und ferner auch mit jungfräulicher Schwarzerde vom Wettersteingebirge [in der Nähe der Angererhütte (1350 m), bezw. in der Nähe der Knorrhütte = Zugspitze (ca. 2100 m) entnommen] geimpft worden waren. Nach den vorläufigen Beobachtungen des Verf. scheinen gerade diese Granuloseorganismen vom Wettersteingebirge als kräftige Säurebildner bei der Verwitterung des Gesteins bezw. bei der ersten Erdbildung eine nicht unwichtige Rolle zu spielen (cf. hierzu auch die späteren kurzen Mitteilungen des Verf. über die Bedeutung der sogenannten Azotobacterorganismen bei den im Boden vor sich gehenden Stoffumwandlungen).

1) Zopf, W., Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Hinsicht. Breslau (E. Trewendt) 1890. p. 123, 175, 176, 377.

2) de Bary, A., Morphologie und Physiologie der Pilze. Leipzig 1866. p. 83. — Ueber die Fruchtentwickelung der Ascomyceten. Leipzig 1863.

3) Lafar, F., Technische Mykologie. Bd. II: Eumycetengärungen. Jena (G. Fischer) 1901. p. 508.

4) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena (G. Fischer) 1903. p. 15 etc.

5) de Bary, A., Ueber einige Sklerotinien und Sklerotienkrankheiten. (Bot. Ztg. 1886. p. 381.)

6) Zopf, W., Die Pilze. Breslau 1890. p. 473.

der im Wachstum begriffenen Zweige vollständig fehlte. — Wenn man von dem durch zahlreiche Untersuchungen eingehender studierten Vorkommen des Glykogens in Hefepilzen absieht, so dürfen wohl fast alle anderweitigen Beobachtungen über seine Bildung durch Mikroorganismen mehr zufällig ohne besondere Rücksicht auf die verschiedenen Entwickelungszustände der betreffenden Organismen gemacht worden sein. Verf. hält daher auch die Annahme für einigermaßen berechtigt, daß man in Zukunft das Glykogen viel allgemeiner verbreitet antreffen wird, wenn man die einzelnen Entwickelungszustände der verschiedensten Organismen, zumal bei abnormer Ernährung, mehr als es bisher geschehen ist, berücksichtigt.

Einen weiteren glykogenbildenden Organismus dürfte übrigens bereits Krüger[1]) bei seinen Untersuchungen über die Organismen der Saftflüsse der Laubbäume unter den Händen gehabt haben, wenn er schreibt: „Wendet man auf die in absolutem Alkohol ausgewaschenen Zellen Jodjodkalium an, so lassen sich im Inhalt von Prototheca Zopfii ein bis mehrere eigentümliche Körper nachweisen, welche sich mit diesem Reagens deutlich rotbraun resp. bei stärkerer Verdünnung violett färben. Sie haben die Form von rundlichen, eckigen Schollen oder Körnern. Nach ihrer Färbung zu schließen, stellen sie möglicherweise ein Kohlehydrat dar. Seine Natur wird definitiv nicht eher festgestellt werden können, bis es makrochemisch isoliert und analysiert worden ist.“ Verf. wird weiter unten hierauf nochmals zurückkommen.

Im übrigen haben die Untersuchungen bezüglich 2 von Krüger in Schleimflüssen aufgefundenen Prototheca-Formen — und zwar Prototheca moriformis (im Lindenflusse) und Prototheca Zopfii (im Ulmenflusse) die von ihm auch näher begründete Tatsache ergeben, daß man es hier mit einem ganz neuen, in dem bisherigen Pilzsystem nicht unterzubringenden Pilztypus zu tun hat, der gleichzeitig eine Parallelgruppe zu einfachen protokokkaceenartigen Algen darstellt. In ähnlicher Weise äußert sich F. Ludwig[2]), wenn er gelegentlich seiner Beobachtungen über Schleimflüsse der Bäume im Jahre 1898 schreibt: „An einer großen Roßkastanie im fürstlichen Parke in Greiz hatte ich schon früher neben Bakterien, Torula monilioides, Prototheca beobachtet, ohne Reinkulturen davon zu machen. Beijerinck, der mich kürzlich um protothecahaltige Flüsse bat, hat aus dem grau- bis braunsandigen Flusse — es sieht aus, als ob der Baum mit einem Gemisch von Sand und Lehm bestrichen wäre — Prototheca moriformis Krüger, P. Zopfii Krüger und Chlorella protothecoïdes Krüger rein gezüchtet. Es ist bemerkenswert, daß ich schon

1) Krüger, W., Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume. (Beiträge z. Morphologie u. Physiologie niederer Organismen. — Arb. a. d. kryptogam. Laboratorium d. Univ. Halle a. S. von W. Zopf. Heft 4. p. 71 u. ff.) Leipzig (A. Felix) 1894.

2) Ludwig, F., Beobachtungen über Schleimflüsse der Bäume im Jahre 1898. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. p. 12.)

1896 an diesem Baume, wie früher an französischen Kastanien- und Ulmenflüssen, Chlorococcum humicola Rbh., Stichococcus bacillaris Nag. nebst anderen Algen in allen Uebergängen zu chloroplastenfreien Formen konstatiert hatte. An anderen Bäumen traf ich selbst Navicula borealis Ehrl. und N. semigulum Grün.[1]) mit schwindenden Chloroplasten. Es ist mir hiernach nicht mehr zweifelhaft, daß alle möglichen chlorophyllfreien Parallelformen zu Algen im Baumfluß wie in Kellern noch heute entstehen können, die, wenn der Chlorophylmangel erblich geworden, als neue Pilzformen — entsprechend Prototheca, Eomyces etc. — anzusprechen sind. Ich habe früher für diese außerhalb des bisherigen Pilzsystems stehenden Gattungen die Bezeichnung Cänomyceten vorgeschlagen." Im übrigen dürfte es hiernach keineswegs zu den Unmöglichkeiten gehören, unter gewissen gegenwärtig nur noch nicht gekannten und beherrschten Bedingungen, insbesondere unter Berücksichtigung geeigneter Passagekulturen, in späterer Zeit die hier in Kürze erörterten Prototheca-Formen in Algen bezw. umgekehrt die zugehörigen Algen in Prototheca-Formen überzuführen.

Was nun einige weitere glykogenbildende Organismen anbetrifft, so konnte Verf. vor einiger Zeit zunächst eine Alge, die wahrscheinlich mit Chlorella protothecoïdes identisch ist, jedenfalls aber zur Chlorella protothecoides-Gruppe gehört, und ferner eine Prototheca-Art, aus einem Molkereiabwasser isolieren; dieser letztere Organismus stellt jedenfalls einen der oben genannten Prototheca-Arten ähnlichen Pilz vor, welcher sehr wahrscheinlich mit der von Beijerinck aus Birkensaftflusse, Abies pin sapo und Faeces homo isolierten und von Krüger Prototheca Beijerinckii genannten Art identisch ist. Auch wurde diese Prototheca-Art späterhin vom Verf. bei seinen schon seit einiger Zeit in Angriff genommenen Untersuchungen über Bodenorganismen neben anderen Mikroorganismen, wie beispielsweise der eben erwähnte Alge (Chlorella protothecoïdes), ferner neben Azotobacter-Organismen etc. in der Nähe von Halle in einem Diemitzer Ackerboden angetroffen. Beide Organismen, die erwähnte Alge und auch die Prototheca-Art, müssen nach unseren bisherigen Kenntnissen als Glykogenbildner auf Grund der Jodjodkaliumreaktion angesprochen werden. Ebenso konnten vom Verf. aus demselben Diemitzer Ackerboden zwei Organismen, die vorläufig als Dematium-Hefe und Dematium-Schimmel bezeichnet worden sind, isoliert werden und welche gleichfalls mit Jodjodkalium in manchen Kulturen wenigstens eine außerordentlich intensive Braunfärbung des Plasmas ergaben. Andere Algen und Prototheca-Arten sind auf ihre etwaige Fähigkeit, Glykogen zu bilden, noch nicht geprüft worden. In Bezug auf die vorstehenden Erörterungen kann man allerdings mit vollem Recht einwenden, daß damit eine Glykogenbildung noch gar nicht endgültig bewiesen ist, da man ja noch nicht wissen kann, ob es nicht doch

1) Vergl. hierzu: Ludwig, Die Genossenschaften der Baumflußorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1896. p. 347.)

etwa noch andere Körper gibt, welche dieselbe Reaktion mit Jodjodkalium geben, die wir aber nur noch nicht kennen. Der makrochemische Glykogennachweis steht allerdings für die eben erwähnten Organismen durch den Verf. noch aus, weil er noch kein größeres Material derselben hat verarbeiten können; dieser Nachweis konnte jedoch vom Verf. in vollem Umfange für andere Mikroorganismen, und zwar für die sogenannten Azotobacter-Organismen [1]), jene frei im Boden lebenden Organismen, erbracht werden, welche nach all den bisherigen diesbezüglichen Untersuchungen eine sehr wichtige, wenn nicht gar die wichtigste Rolle bei der Verarbeitung des freien, ungebundenen Stickstoffes der

1) Anmerkung: Diese Organismen vermögen nach den neuerdings verschiedentlich gemachten Beobachtungen ganz zweifellos für sich allein und damit im Gegensatze zu den späteren Mitteilungen von Beijerinck gegenüber dessen früheren (cf. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II Bd. IX. 1902. p. 3 und ebenda Bd. X. Bd. VII. 1901. p. 574), den freien, ungebundenen N der Luft zu assimilieren; infolgedessen legen sie unter geeigneten Bedingungen nicht unbeträchtliche Mengen N zunächst wohl in Form von Eiweißstickstoff (Organismensubstanz) im Boden fest. Obendrein dürften nach mancherlei neueren Beobachtungen des Verf. neben verschiedenen chemischen Stoffen (siehe später) auch gewisse Begleitbakterien (wie beispielsweise etwaige Asparaginsäure- und Milchsäurebildner), zumal bei Gegenwart von Kalk und Gyps, außerordentlich fördernd auf die Entwickelung und die ganze Tätigkeit der Azotobacter-Organismen, wie auch auf deren Vermögen, Glykogen zu bilden, einwirken. Schon lange unterlag es wohl auch für die meisten Autoren, welche sich mit der Azotobacter-Organismenfrage bisher beschäftigt haben, keinem Zweifel mehr, daß diese Organismen sehr weit und allgemein verbreitet sind, und daß es nur an dem zu ihrer Entwickelung und Reinzüchtung gerade angewandten Kulturverfahren liegen kann, wenn man zunächst negative Resultate erhielt, obwohl Azotobacter in den meisten Böden etc. zweifellos vorhanden und auch entwickelungsfähig ist.

Die Azotobacter-Organismen sind nun bekanntlich bereits verschiedentlich im Ackerboden (von Krüger, Beijerinck, Gerlach, Vogel, v. Freudenreich und anderen Forschern), weiterhin in Gartenerde, Wiesenboden, im Sande der Meeresdünen, im Sande der Kartoffeläcker, im alten Blattdünger, im Kanalwasser von Delft (Beijerinck), ferner auch im Meerwasser (Bennecke) aufgefunden worden; ihr Vorkommen im Meerwasser ist eigentlich selbstverständlich, nachdem diese Organismen schon früher von Beijerinck im Dünensande regelmäßig angetroffen wurden. Neuerdings konnte das Vorkommen von Azotobacter auf den verschiedensten Parzellen des Lauchstädter Versuchsfeldes, insbesondere aber fast regelmäßig und reichlich in Brachparzellen bezw. in schon früher in Brache gewesenen Ackerböden sowie in verschiedenen sonstigen, in der Nähe von Halle untersuchten Ackerböden nachgewiesen werden. Ferner wurde Azotobacter im Saalewasser, in Schmutzwässern, in verschiedenen Wiesenböden sowie im Waldboden der sogenannten Haide in der Nähe von Halle, bisher allerdings erst im jungen Eichenbestande, festgestellt. Schließlich konnte das Vorkommen der Azotobacter-Organismen vom Verf. auch noch im Weinbergsboden von Meran (in der Nähe von Schloß Tirol), ferner von Arco, Riva-Torbole und von Halle (Weinberg a. d. Haide), im Olivenplantagenboden von Gargnano-Toscolano und von Gardone-Riviera am Gardasee, ferner in einem indischen Schwarzerdeboden aus dem Himalayagebiet, welcher dem Verf. von Herrn Dr. H. C. Müller hier in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, sowie im Wiesenboden des Rigi (in der Nähe von Rigi-Staffel ca. 1700 m hoch entnommen) und in jungfräulicher Schwarzerde der Nord- und Südtiroler Kalkalpen, und zwar der westlichen Ausläufer des Monte Baldo (Gardasee) oberhalb des Fort Nago (1200—1300 m), und in ebensolchem Boden des Wettersteingebirges in der Nähe der Angererhütte (ca. 1350 m) und der Knorrhütte-Zugspitze (ca. 2100 m) nachgewiesen werden. Auf alle Fälle unterliegt es gar keinem Zweifel mehr, daß gerade die N-sammelnden Azotobacter-Organismen ganz allgemein verbreitet sind.

Luft spielen dürften. Nach einigen gelegentlichen Vorversuchen des Verf. mit einigen Leguminosenbakterienkulturen (Vicia faba, Vicia sativa, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum) dürften auch in den sogenannten Bakteroidengebilden dieser Organismen zuweilen recht beträchtliche Mengen Glykogen gebildet werden. Die Vermutung, daß der mit Jodjodkalium sich rotbraun färbende Körper Glykogen sein möchte, wird übrigens auch in den neuesten, von Hiltner[1]) bekannt gegebenen umfangreichen, in vieler Hinsicht sehr interessanten Untersuchungen über die Wurzelknöllchen und deren Erreger ausgesprochen. Auf die Bedeutung des Glykogens als Stoffwechselprodukt von Pilzen und Mikroorganismen, insbesondere auch auf den event. hohen Wert dieses Körpers bei der Beurteilung der N-Assimilationsvorgänge durch die erwähnten Azotobacter-Organismen wird der Verf. später noch kurz zurückkommen.

B. Einiges über die Bedingungen der Glykogenbildung, sowie über glykogenbildende Stoffe etc.

Unter allen Pilzen bezw. Mikroorganismen sind es vor allem die Hefen, welche verhältnismäßig am genauesten auf ihren Gehalt an Glykogen, weiterhin auf die Bedingungen der Glykogenbildung und schließlich auch auf die überaus hohe Bedeutung dieses Kohlehydrates für den gesamten Stoffwechsel untersucht wurden. In erster Linie hat dies wohl seinen Grund in dem hohen Werte, welche die Hefen für die Praxis der Gärungsgewerbe haben. Neben anderen Forschern hat nun vor allem Laurent[2]) und zwar auf Veranlassung von Errera[3]) unter anderen auch weitere Versuche angestellt, um die Bedingungen näher zu ergründen, unter welchen eine Anreicherung der Hefezellen an Glykogen erfolgt, und welche Stoffe derselben etwa förderlich sein könnten. Bei diesen Versuchen konnte übrigens die Beobachtung gemacht werden, daß für den erwähnten Zweck das Züchten auf Würzegelatine ganz besonders vorteilhaft ist. Als spezielle Glykogenbildner werden alsdann von Laurent folgende Stoffe angegeben: Milchsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure, Lävulose, Dextrose, Saccharose, Maltose, ferner auch Mannit, Asparagin, Glutamin, Eiereiweiß und Pepton. Diesen Körpern wurde von Cremer[4]) noch die d-Galaktose und die d-Mannose angereiht; von letzteren wurde jedoch als ungeeignet sowohl die Arabinose,

---

1) Hiltner und Störmer, Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger. (Arbeiten a. d. biologischen Abteilung d. kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. Heft 3. p. 151—307. Mit 4 Taf. u. 5 Abbildgn. im Text.) Berlin (Paul Parey) 1903.

2) Laurent, Emile, Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la levure de bière. (Annales de l'Institut Pasteur. T. II. 1888; p. 113. cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. V. 1889. p. 794.)

3) Errera, Leo, Anhäufung und Verbrauch von Glykogen in Pilzen. (Berichte d. deutschen botan. Gesellschaft. Bd. V. 1887. p. 500.)

4) Cremer, Max, Ueber die Umlagerung von Zuckerarten unter dem Einflusse von Ferment und Zelle. (Zeitschrift f. Biologie. Bd. XXXI. 1894. p. 183.)

Rhamnose und Sorbose wie auch die Laktose und das Glycerin gefunden; in Bezug auf letzten beider Stoffe gelangte allerdings Laurent[1]) zur gegenteiligen Behauptung, wenn auch auf deren Kosten nur eine ziemlich mangelhafte Entwickelung der Hefen beobachtet werden konnte. Alsdann haben E. Kayser und A. Boulanger[2]) den Einfluß einiger äußeren Bedingungen, wie beispielsweise des Luftzutrittes und des Gehaltes der Nährlösung an Weinsäure und Apfelsäure oder Zitronensäure auf Eintritt und Verlauf der Glykogenaufspeicherung näher zu prüfen gesucht.

Aus den Versuchen der beiden Autoren mag vielleicht folgendes hervorgehoben werden. Unter den gerade innegehaltenen Bedingungen war zunächst der Einfluß des Luftzutrittes auf die Glykogenbildung derartig, daß in flachen mit Hefen geimpften Kulturgefäßen sich immer weniger Glykogen gebildet hat, als in den tiefen; auch verschwand es in ersteren wieder immer viel schneller. Die Verff. suchen diese Erscheinungen des näheren zu erklären (reichlichere Vermehrung der Hefe an der Oberfläche; hindernder Einfluß des Alkohols auf das Wiederverschwinden des Glykogens). Aus den weiteren Versuchen über den Einfluß der Säuren auf die ev. Glykogenbildung ließen sich nach den Verff. folgende Schlüsse ziehen:

1) Es bildet sich um so mehr Glykogen in der Hefe und es verschwindet dasselbe um so weniger rasch, je geringer die Acidität ist.

2) Die Natur der Säure spielt eine große Rolle: die Weinsäure scheint bei den starken Dosen die Glykogenbildung am meisten zu hindern.

3) Die Gärtemperatur und die Natur der Hefe sind ebenfalls von Bedeutung. Auch haben die Verff. schon auf die gerade vorhandenen N-Mengen als einen Faktor hingewiesen, welcher bei der Frage über die Glykogenbildung und über dessen späteren Verbrauch möglicherweise eine gewisse Rolle spielen könnte. Durch umfangreichere Untersuchungen mit 28 Stämmen von Weinhefen hat alsdann R. Meissner[1]) zunächst feststellen können, daß das Glykogen bereits in den jungen Sprossen auftritt, sobald diese etwa $^1/_5$ des Durchmessers der Mutterzelle erreicht haben. Meissner ließ unter anderen auch einige orientierende Versuche über den Maximalgehalt der Hefen an Glykogen anstellen, wobei auf seine Veranlassung Gontscharuk (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1900. p. 546) unter geeigneter Versuchsanstellung zu dem Resultate kam, daß bei den eingehaltenen Bedingungen die

---

1) Laurent, Emile, Etudes biologiques. Partie I. Recherches physiologiques sur les levures. (Annales de la soc. belge de microscopie. T. XIV. 1890. p. 29.)

2) Kayser, E., und Boulanger, E., Studien über die Bildung des Glykogens in der Hefe. (Annales de la Brasserie et de la Distillerie. 1898. — cf. Chem. Centralblatt. Ref. II. 1898. p. 440, sowie A. Kochs Jahresbericht. Bd. IX. 1898. p. 75.

1) Meissner, R., Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 517—525 und 545—554.)

Hefenzellen am reichlichsten Glykogen aufgespeichert hatten, als der Wein 5,45—5,76 Gewichtsprozent Alkohol enthielt, d. h. am Schlusse der Hauptgärung. Wie Meissner selbst schreibt, so kann man den angegebenen Zahlen selbstverständlich noch keinerlei allgemein gültige Bedeutung beilegen, „denn die Hauptgärung eines Weines braucht nicht gerade bei einem Gehalte desselben von 5,45 Proz. Alkohol vollendet zu sein; das richtet sich nach der chemischen Zusammensetzung des Mostes, speziell nach dem Zuckergehalte desselben. Immerhin bestätigen die Untersuchungen Gontscharuks die Angaben von Will[1]) und Lindner[2]), nach denen auch am Schlusse der Hauptgärung die Hefe reich an Glykogen ist."

In Bezug auf die Glykogenbildung bei Weinhefen konnte Verf. ebenfalls einige Beobachtungen machen, als er an der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Colmar i./E. unter anderem auch mit der Reinzüchtung von Heferassen des elsaß-lothringschen Weinbaugebietes beschäftigt war. Diese Beobachtungen decken sich im allgemeinen mit denen Meissners, daß nämlich während der Hauptgärung eine Zunahme an Glykogen, allerdings nur auf mikrochemischem Wege, festgestellt werden konnte; das Maximum an dem in der Hefezelle gebildeten Glykogen war bei Kulturen, welche bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (17—18° C) standen, anscheinend immer bei beendeter Hauptgärung vorhanden; freilich ist damit weder von Meissner noch auch vom Verf. bisher ein wirklich exakter Beweis für die Glykogenmengen, welche in den verschiedenen Entwickelungsstadien der Hefen gebildet werden können, insbesondere auch nicht für den Maximalglykogengehalt geliefert worden. Dieser kann selbstverständlich nur auf makrochemischem quantitativen Wege unter Berücksichtigung der gebildeten Hefenmengen (ihres Vermehrungs- und Gärzustandes) erbracht werden. Besonders reichliche Glykogenmengen konnten vom Verf. immer bei Würzegelatinekulturen bezw. Traubenmostgelatinekulturen, auffallend weniger reichliche Mengen bei den entsprechenden Agar-Agarkulturen festgestellt werden; auch machte Verf. schon damals manche Beobachtungen, welche darauf schließen ließen, daß die Glykogenbildung bei Hefen möglicherweise in hohem Maße vom N-Gehalte bezw. auch von den N-Formen der Kulturmedien abhängig ist. Im übrigen konnte weiterhin festgestellt werden, daß die Glykogenbildung bei Vorhandensein von geeigneten Kohlehydraten, wie Zucker, Stärke, Cellulosespaltungsprodukten, Pektinstoffen (welche vermutlich zuvor erst in gärungsfähigen Zucker übergeführt werden), sowie von höheren Alkoholen etc. außerordentlich stark durch die Temperaturen wie auch durch den Luft- bezw. Sauerstoffzutritt beeinflußt wird, neben anderen Stoffen vor allem aber auch die An-

1) Will, H., Die Hefenzelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedensten Stadien der Entwickelung und des Zerfallens unter dem Mikroskop. (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. 1892. No. 67. p. 1088—1091.)

2) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 2. Aufl. Berlin 1898. p. 254—256.

wesenheit von Asparaginsäure, ferner durch kohlensaures und carbaminsaures Ammoniak und Milchsäure außerordentlich gefördert wird. Ganz ähnliche Resultate erhielt Verf. bei seinen späteren Studien über die Glykogenbildung durch die sogenannten Azotobacter-Organismen. Besonders üppige und glykogenreiche Vegetationen dieser Organismen konnten vor allem auch in Kulturen mit geringem Milchsäure- und Asparaginsäuregehalte, zumal bei Gegenwart von erdigen Bestandteilen, von kohlensaurem und schwefelsaurem Calcium erhalten werden. In Kulturen, in welchen als Kohlehydratnahrung Pektinstoffe[1]) gegeben worden waren, konnte bei gleichzeitiger geringer N-Gabe in Form von $(NH_4)_2SO_4$ (ca. 10 mg Salz pro 100 ccm Kulturflüssigkeit) nach den bisherigen, vorläufigen Beobachtungen des Verf. als intermediäres Produkt die Entstehung von Fehling'sche Lösung reduzierenden Substanzen nachgewiesen werden, welche für Hefe gärfähig waren, also zweifellos Zucker vorstellen dürften. Da Pektinstoffe auch im Ackerboden etc. vorkommen und zwar demselben mit allerhand Wurzelrückständen, Stoppeln etc. immer von neuem einverleibt werden, so dürfte gerade das Vorkommen dieser Körper neben Cellulosespaltungsprodukten vielleicht nicht ohne eine gewisse Bedeutung für die Beurteilung der gesamten N-Assimilationsvorgänge, besonders auch durch die sogenannten Azotobacter-Organismen sein. Inwieweit in dieser Hinsicht auch die Humusstoffe eine gewisse Rolle zu spielen vermögen, müssen allerdings erst weitere Untersuchungen ergeben: Auf alle Fälle erzielt man in Kulturflüssigkeiten mit geringen Dextrosemengen (0,02 und 0,1 Proz.) aber beträchtliche Huminsäuremengen (1 Proz.), unter Zugabe von $CaCO_3$ sehr üppige Azotobacter-Vegetationen mit Kahmhautbildungen und dicker Ringbildung an den Wandungen der Kulturgefäße bei gleichzeitiger reichlicher Glykogenbildung. Ueber die Glykogenbildung während der verschiedenen Entwickelungsstadien der sogenannten Azotobakter-Organismen wird ausführlicher erst in einer späteren Abhandlung berichtet werden. Hier mag nur erwähnt werden, daß eine auffallend starke Glykogenbildung immer bei Würzegelatinekulturen dieser Organismen einzutreten pflegte, bei denen obendrein die einzelnen Individuen merkwürdigerweise sehr an die großen, runden, ebenfalls als sogen. Bakteroïdenformen bezeichneten Gebilde der Leguminosenbakterien erinnerten. Im übrigen gedeihen die Azotobacter-Organismen neben N-freien bezw. N-armen Kulturmedien auch in N-reichen Nähr-

1) Anmerkung: In ähnlicher Weise scheinen unter geeigneten Bedingungen Schimmelpilze Pektinstoffe in reduzierende gärfähige Substanzen überzuführen: Wenigstens konnte Verf. bei seinen weiteren Untersuchungen über Oxalsäurebildung durch Aspergillus niger in Kulturen, welche als Kohlehydratnahrung nicht Traubenzucker oder Rohrzucker etc., sondern Pektinstoffe erhalten hatten, die Beobachtung machen, daß bei minimalem N-Gehalte (10 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm Kulturflüssigkeit) noch keinerlei Oxalsäurebildung eingetreten war; wohl aber waren neben anderen, noch nicht näher bestimmten Säuren etc. in der Kulturflüssigkeit Fehling'sche Lösung reduzierende, gärfähige Substanzen gebildet worden; das Ammoniak war übrigens vollständig aufgenommen worden.

böden der verschiedensten Art ganz ausgezeichnet, selbst in etwas modifizierter gewöhnlicher Bouillon, sowie in Bierwürze. Sehr üppige Vegetationen erhält man unter anderem auch, wenn man zur Züchtung dieser Organismen die eben erwähnten Würzegelatine bezw. Würzeagar als Nährböden mit und ohne $CaCO_3$-Zusatz [1]) verwendet. Diese Organismen gedeihen obendrein nicht nur in schwach alkalischen bezw. neutralen Medien, sondern auch ganz gut in schwach sauren; Näheres darüber wird später berichtet werden.

Weiterhin ist von Cremer [2]) gezeigt worden, daß ausgehungerte, mit Jod keine Glykogenreaktion (Braunfärbung) mehr gebende Hefe in 5—10-proz. Lösungen von Dextrose, Lävulose, Rohrzucker sehr bald, bei Dextrose schon nach 24 Stunden wieder eine intensive Glykogenbildung aufweist. Auch d-Galaktose und d-Mannose ließen solche nach 2 Tagen nachweisen. In Lösungen von Arabinose,

---

1) Auch kann man die Azotobacter-Organismen unter sehr reichlicher Glykogenbildung zu ausgezeichneter Entwickelung bringen, wenn man in geeigneter Weise hergerichtete sogenannte Gipsblockkulturen (mit oder ohne Zusatz von Kalk oder erdigen Bestandteilen) verwendet; weiterhin kann man mit diesen Materialien auch sehr bequem in Reagenzröhren schräg erstarrende Flächen herrichten und diese gewissermaßen zu Strichkulturen verwenden. Interessant sind bekanntlich auch die oftmals mehr, oftmals weniger intensiven schwärzlichen oder braunen Verfärbungen der Azotobacter-Kulturen: Im allgemeinen konnte Verf. besonders bei reichlicherem Kalk- oder Gipszusatze fast regelmäßig schon nach einigen wenigen Tagen eine tiefschwarzbraune Verfärbung der sehr üppig entwickelten Kulturen beobachten, obendrein können aber bei wechselndem N-Gehalte bezw. N-Form die mannigfachsten Abstufungen in der Färbung vom Braunrot über Braungelb, Olivgrün bis zum mehr oder weniger intensiven Schwarz bemerkt werden. Für diese Verfärbungen ist wahrscheinlich in erster Linie Zustand des Impfmateriales, sowie Alkalität und N-Gehalt des Nährbodens maßgebend. Näheres später. So wichtig und wertvoll übrigens die bekannten neuesten Untersuchungen und Mitteilungen von Gerlach und Vogel über die Azotobakterorganismen in mancher Hinsicht sind, so unzureichend (weil viel zu wenig weit ausgedehnt und zu schnell verallgemeinert) sind dieselben in Bezug auf einen Punkt, als sie nämlich auf die Prüfung der Azotobakterorganismen auf ihre Reinheit hin zu sprechen kommen. Zweifellos sind diese Organismen für sich allein, ohne Wirkung von anderen Bakterien im Stande, den freien N der Luft zu assimilieren, und unter geeigneten Bedingungen sogar in ziemlich beträchtlichen Mengen festzulegen, niemals aber wird man sie unter Verwendung von Bouillon in Bezug auf ihre Reinheit prüfen können. Denn ganz abgesehen davon, daß sich in Azotobakterreinkulturen bisweilen auch Mikroorganismen als Infektionen werden einfinden können, welche zufälligerweise in der gleichen Weise wie nach Gerlach und Vogel die Azotobakterorganismen in Bouillon entweder überhaupt nicht oder nur äußerst langsam und kümmerlich sich entwickeln, so gedeihen tatsächlich die Azotobakterorganismen selbst in gewöhnlichen Bouillonkulturflüssigkeiten ganz gut, zumal wenn man die verschiedenartigen Entwickelungszustände derselben sowie bestimmte Zusätze von besonderen Stoffen nicht außer acht läßt. Auf alle Fälle ist es nicht angängig, in der Weise, wie es Gerlach und Vogel tun, auf Grund einiger weniger, unter gewissen Bedingungen zufälligerweise im entgegengesetzten Sinne gemachten Beobachtungen dieselben nun sofort zu verallgemeinern und die Bouillon gewissermaßen als Reagens für die Reinheit der Azotobakterkulturen hinstellen. Eine sichere Prüfung dieser Kulturen auf ihre Reinheit kann selbstverständlich wie ganz allgemein lediglich durch wiederholtes Plattengiessen unter eventueller Verwendung verschiedenartiger Nährböden, niemals aber durch ein bloßes Ueberimpfen in irgendwelche flüssige Medien vorgenommen werden.

2) cf. Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin (P. Parey) 1903. 335 p.

Rhamnose, Sorbose, Glycerin, Milchzucker blieb sie jedoch aus. — Dabei nimmt übrigens Cremer an, daß die Vergärbarkeit der Lävulose nur durch ihre Umwandlung in Dextrose resp. Glykogen durch die Hefezelle ermöglicht werde.

Schließlich ist wohl auch eine bemerkenswerte Beobachtung der weiteren Verfolgung wert, welche ebenfalls von M. Cremer[1]) vor einiger Zeit gemacht worden ist. In einem glykogenfreien Hefepreßsaft, der mit 10 oder mehr Prozent von gärungsfähigem Zucker (Dextrose) versetzt und bei gewöhnlicher Temperatur gehalten wurde, ließ sich nämlich nach ungefähr 12 Stunden die Glykogenreaktion hervorrufen. Möglicherweise hat man also in dem Zellinhalte die Anwesenheit eines synthetisch wirkenden Enzyms anzunehmen.

C. Mikrochemischer Nachweis, Gewinnung und quantitative Bestimmung des Glykogens.

Der mikrochemische Nachweis bietet uns bekanntlich im allgemeinen keine Schwierigkeiten: Man kennt wenigstens bisher keinen Zellinhaltsbestandteil, welcher in ähnlicher Weise wie das Glykogen auf den Zusatz von Jod eine tief braunrote Färbung annimmt und infolgedessen mit diesem Körper verwechselt werden könnte.

Die im Vergleiche zu jenem Farbentone verhältnismäßig sehr blasse Gelbfärbung, welche nach einer derartigen Behandlung die eiweißartigen Bestandteile der Zelle aufweisen, wird wohl selbst von einem Anfänger nicht jenem satten Braun gleich gehalten werden. Wenn dennoch Zweifel auftreten sollten, so mag man sich dadurch Gewißheit verschaffen, daß man, wie auch Lafar[2]) schreibt, in Verwertung einer zuerst von Errera[3]) gemachten Beobachtung das mit Jod behandelte Präparat sehr behutsam auf 60—70° C erwärmt. Bei dieser Behandlung bleibt nämlich das blasse Gelb der gefärbten Eiweißkörper, das Rotbraun hingegen verschwindet, um beim Erkalten wieder in seiner früheren Stärke aufzutreten.

Weiterhin kann man übrigens durch schnelles Beobachten unter dem Mikroskope feststellen, daß der gebräunte Inhaltskörper alsbald nach seinem Austreten in die umgebende Flüssigkeit sich darin löst, sobald man nämlich durch Drücken auf das Deckglas die vorher mit Jodjodkaliumlösung behandelten Zellen zerquetscht. Was schließlich vom Zellinhalt noch übrig bleibt, zeigt das reine Gelb, wie es alle mit Jod behandelten Eiweißkörper aufweisen.

Wenn das Glykogen in einigermaßen größeren Mengen vorhanden ist, so fällt es übrigens dem geübteren Mikroskopirenden schon

1) Cremer, M., Ueber Glykogenbildung im Hefepreßsaft. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXII. 1899. p. 2002; Chem. Centralbl. Ref. Bd. II. 1899. p. 447; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 90.)

2) Lafar, F., Technische Mykologie. Bd. II. Eumycetengärung. Jena (G. Fischer) 1903. 509 p.

3) Errera, Léo, L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles 1882.

im ungefärbten Präparate durch seine optischen Eigenschaften auf: man kann es alsdann in der Zelle als eine halbflüssige, weißliche, das Licht stark brechende, opalisierende Masse beobachten. In den Hefenzellen findet es sich zuweilen ringsum in den wandständigen Teilen des Zellinhaltes, zuweilen aber auch, wie Errera[1]) bemerkt hat, an einer einzigen Stelle angesammelt und zu einer halbmondförmigen Masse zusammengeballt.

Das Gelingen der Glykogenreaktion mittelst der Jodjodkaliumlösung scheint allerdings (wenigstens bei Hefen) in erster Linie nach unseren bisherigen Kenntnissen von einer etwas stärkeren Konzentration derselben bezw. davon abzuhängen, daß durch die Jodlösung die Zelle getötet wird.

Mit einer Jodlösung von 100 ccm Wasser, 10 g Jodkalium und 5 g Jod erhielt Verf. seinerzeit bei Hefen immer eine scharfe Reaktion, sofern überhaupt Glykogen vorhanden war. Bei den sog. Azotobacter-Organismen (sowohl bei ganz jungen Individuen wie auch bei solchen in schon Monate alten Kulturen) konnte jedoch Verf. bereits mit 10—20-fach verdünnteren Lösungen intensive Glykogenreaktionen erzielen. Diese Erscheinung dürfte wohl im allgemeinen auf die meist außerordentlich verschleimten Zellmembranen dieser Organismen zurückzuführen sein, welche für die Jodlösung sich als viel leichter durchlässig erweisen, als die Membranen der Hefezellen. Im übrigen konnte Verf. seinerzeit im Gegensatz zu den Mitteilungen von Will[2]) und Lindner[3]), welche in den Hefezellen während der ersten Stadien der Hauptgärung keine Glykogenbildung haben feststellen können, ähnliche Beobachtungen machen, wie sie schon von Meissner[4]) bekannt gegegeben worden sind, wenn er schreibt: „Mit einer verdünnten Lösung von Jod in Jodkalium bekam auch ich nur eine Zellfärbung der Zellen (nämlich bei der Nachprüfung der Beobachtungen von Will und Lindner über die eventuelle Glykogenbildung während der ersten Stadien der Hauptgärung. D. Ref.) Dieselbe änderte sich nicht, selbst nachdem das Jod 3 Minuten lang auf die Zellen eingewirkt hatte. Ein anderes Resultat dagegen erhielt ich, wenn ich eine zweite Hefeprobe aus demselben Moste durch Erhitzen auf dem Objektträger abtötete. Alsdann trat mit derselben schwachen Jodlösung momentan Rotbraunfärbung des Zellinneren ein. Diese Erscheinung beruht offenbar darauf, daß lebenskräftige, sprossende Hefe gegen die Einwirkung des Jods größere Widerstandsfähigkeit als Hefe im toten Zustande besitzt, und daß das Plasma erst für Jod durchlässig sein muß,

---

1) Errera, Léo, Sur l'existence du glycogène dans la levure de bière. (Compt. rend. T. CI. 1885. p. 250; Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Ref. Bd. VIII. 1885. p. 333; Chem. Centralbl. 1885. p. 685.)

2) Will, H., Die Hefezelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung und des Zerfalles unter dem Mikroskop. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. 1892. N. 67. p. 1088.)

3) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin (P. Parey) 1898. p. 254.

4) Meissner, R., Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 523.)

ehe die Glykogenreaktion eintreten kann. In diesem Sinne schreibt auch Will[1]): „Die Hautschicht ist für die lebende Hefe von hoher Bedeutung, insofern sie nicht allein darüber entscheidet, ob ein Körper in das Innere derselben gelangt, sondern durch sie gewinnt die Zelle auch die wichtige Eigenschaft, gelöste Stoffe zurückzuhalten. Wässerige Farblösungen werden beispielsweise wohl von der Zellmembran aufgenommen, während das Hautplasma dieselben nicht durch sie hindurchläßt. Es färben sich also die Hefezellen mit wenigen Ausnahmen nicht, wenn man eine sehr verdünnte, wässerige Lösung eines Anilinfarbstoffes auf denselben einwirken läßt . . . . Läßt man auf solche (mit absolutem Alkohol behandelte) Hefezellen sehr verdünnte Farblösungen einwirken, so speichert der kontrahierte Zellinhalt sofort den Farbstoff auf und erscheint intensiver als die umgebende Lösung gefärbt . . . Gleichzeitig werden aber Hefezellen durch die Behandlung mit Alkohol abgetötet, und hierbei ändert das Hautplasma sein Verhalten gegenüber verdünnten Anilinfarben."

„Das Gelingen der Glykogenreaktion mittelst Jodjodkalium hängt also in erster Linie davon ab, daß durch die Jodlösung die Zelle getötet wird. Wendet man eine stark verdünnte Jodjodkaliumlösung an, so erhält man eben nur eine Gelbfärbung der sprossenden Hefenzellen, obwohl in denselben Glykogen enthalten ist. Der Fehler, den ich seinerzeit, als ich der „Winninger"hefe den Gehalt an Glykogen absprach, begangen habe, ist auch dadurch geschehen, daß ich mit zu schwacher Jodlösung arbeitete, bezw. nicht lange genug wartete, bis das Plasma für Jod durchlässig war. Hierauf ist es wohl auch zurückzuführen, wenn Will und Lindner in den sprossenden Hefezellen die Gegenwart von Glykogen nicht konstatieren konnten. Beide Forscher geben leider in ihren Arbeiten nicht an, wie die Jodjodkaliumlösung zusammengesetzt war, die sie zu ihren Untersuchungen benutzten."

Auf Grund der eben angedeuteten Ueberlegungen hat alsdann Meissner eine konzentriertere Lösung von Jod in Jodkalium verwandt, indem er zu 100 ccm destilliertem Wasser 20 g Jodkalium und 7 g Jod gab. Hiermit erhielt Meissner andere Resultate, indem er weiterhin schreibt:

„Mit dieser Jodlösung erhielt ich dann schnell und scharf die Glykogenreaktion in den sprossenden Hefezellen und zwar bei allen untersuchten 28 Weinheferassen. Ob sich die Bierkulturhefen anders in dieser Hinsicht verhalten als Weinhefen, müßten Nachuntersuchungen ergeben. Bei den Weinhefen zeigten selbst Tochtersprosse, die etwa erst $^1/_5$ Längendurchmesser der Mutterzelle erreicht hatten, auf Zusatz der konzentrierteren Jodlösung nahezu dieselbe Rotbraunfärbung wie die Mutterzellen; nur die ganz kleinen Sprosse, die eben erst als kleine Ausstülpungen an der Mutterzelle sichtbar wurden, erschienen gelb gefärbt.

1) Will, H., Die Hefezelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung und des Zerfallens unter dem Mikroskop. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. 1892. No. 67. p. 1088).

Betrachtet man ein Präparat, dem man am Deckglasrand einen Tropfen konzentrierter Jodlösung hinzugefügt hat, an verschiedenen Stellen, so kann man deutlich 3 Regionen unterscheiden. In der einen, in welcher die Hefezellen sich gelb färben, während die umgebende Flüssigkeit farblos bleibt, ändert sich die Gelbfärbung der Zellen längere Zeit hindurch nicht; erst ganz allmählich tritt unter Umständen eine leichte Rotbraunfärbung ein. Verschiebt man aber das Präparat nach der Stelle zu, wo die die Hefenzellen umgebende Flüssigkeit schwach gelb erscheint, so nimmt man deutliche Glykogenreaktion der Zellen wahr. In dem Teil des Gesichtsfeldes endlich, in welchen die Flüssigkeit intensiv gelb gefärbt ist, heben sich die rotbraun gefärbten Hefezellen scharf von der sie umgebenden Flüssigkeit ab. Es geht hieraus hervor, daß eine Zunahme in der Konzentration der angewandten Jodlösung auch eine schnellere und intensivere Glykogenreaktion zur Folge hat. Die Gründe für die Erscheinung sind bereits oben erwähnt."

Die Abscheidung und Gewinnung des Glykogens der Pilze alsdann auf makrochemischen Wege ist wohl zuerst von Errera[1]) (siehe auch oben) mit Erfolg versucht worden. Die von ihm gewonnenen Mengen waren jedoch für den Bedarf einer genaueren makrochemischen Untersuchung bei weiten nicht ausreichend; indessen konnte erst Cremer[2]) im Jahre 1892 genügende Mengen gewinnen, um unter anderem vor allem auch feststellen zu können, daß das Glykogen der Hefe mit jenem der tierischen Leber vollständig übereinstimmt. Die umfassendsten Untersuchungen über die Chemie dieses Kohlehydrates verdanken wir jedoch einem Schüler Erreras, nämlich G. Clautriau[3]), welcher in seiner Arbeit auch ausführlicher über die Wahl des jeweils besten Verfahrens zur Abscheidung des Glykogens aus den verschiedenen Arten von Pilzen berichtet. Als Material zur Darstellung dieses Körpers dienten ihm Phallus impudicus, Boletus edulis, Amanita muscaria und Hefe. Der Glykogengehalt wechselt übrigens bei den einzelnen Pilzen nach sehr verschiedenen Gesetzen und es muß deshalb die günstigste Erntezeit für jede Pilzart immer erst besonders bestimmt werden, um eine gute Ausbeute zu erzielen. So ist beispielsweise der Stiel von Phallus unmittelbar vor der Streckung sehr reich an Glykogen, enthält aber nach derselben nur noch Spuren, ein Umstand, der durch die Natur dieses Körpers seine Erklärung findet. Auch würde Phallus das geeignetste Material darstellen, sofern dieser Pilz nur nicht so relativ selten wäre. Weiterhin ist Boletus am

---

1) Errera, Léo, L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles 1882. Cf. Lafar, Technische Mykologie. Bd. II. p. 509.

2) Cremer, M., Demonstration des Hefenglykogens in den Zellen. (Münch. mediz. Wochenschr. 1894. No. 26).

3) Clautriau, M., I. Étude chimique du glycogène chez les champignons et les levures. (Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique. Collection in 8°. T. LXXI. 1. 1895—1896. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. 1896. p. 429, ebenso A. Kochs Jahresberichte. Bd. VI. p. 51).

glykogenreichsten, wenn der Hut sich zu entfalten beginnt; es sind nur große Exemplare zu nehmen und bei jedem einzelnen die Tauglichkeit vermittelst der Glykogenreaktion noch besonders festzustellen. Allerdings ist bei diesem Pilze der große Schleimgehalt ein die Extraktion sehr erschwerendes Moment. Von Amanita sind ebenfalls möglichst große Exemplare und diese wiederum in dem Stadium zu wählen, in welchem der Stiel stark aufgeschwollen und im Begriff ist, sich zu strecken. Amanita enthält übrigens sehr wenig Schleim und ist insofern ein sehr günstiges Objekt; nur muß man hier das gewonnene Glykogen noch zu wiederholten Malen mit Alkohol ausfärben, weil demselben ein aus dem Pilz stammender, durch Oxydation gebildeter brauner Farbstoff sehr hartnäckig anhaftet.

Wenn man nun das Glykogen aus Pilzen gewinnen will, so muß man, um möglichst geringe Verluste zu erleiden, die Pilze sofort höheren Temperaturen aussetzen; hierdurch werden die Enzyme, welche das Glykogen umsetzen, zerstört.

Bei Phallus ist dies nach Clautriau auch deswegen notwendig, weil dieser Pilz unter dem begünstigenden Einflusse der in seinem Schleimmantel enthaltenen großen Wassermengen sein Wachstum auch ohne Mycel noch eine Zeit lang fortsetzt, so daß nach 24 Stunden eventuell alles Glykogen verschwunden sein kann; bei Boletus ist dies nicht der Fall; hier beobachtet man eine merkliche Zersetzung nur, wenn der Pilz durch Schimmel etc. in Zersetzung übergeht.

Um die Pilze abzutöten, genügt es, sie nach ihrer Zerkleinerung in kochendes Wasser zu bringen. Bei der Extraktion des Glykogens, vor allem aus vegetabilischen Geweben, handelt es sich weiter darum, letzteres möglichst zu zerreiben; die Bearbeitung im Mörser genügt hierzu jedoch im allgemeinen nicht, indem hierdurch die Zellen wohl voneinander getrennt, nicht aber zerstört werden. Obendrein schützt auch die schleimige Schicht die Zellmembranen sehr vor einer Zertrümmerung.

Das Zerreiben unter Zusatz von Sand oder anderen unlöslichen Körpern, welche man bisher wohl allgemein verwendete, gibt im allgemeinen kaum zufriedenstellende Resultate. Nach Clautriau besteht das einzige Mittel, um fast alle Zellen zu zerstören und so das meiste Glykogen zu gewinnen, darin, das Gewebe zunächst zu trocknen und alsdann zu pulverisieren. Uebrigens werden beim Abkochen der Pilzstücke bereits große Mengen des darin befindlichen, oftmals recht störenden Schleimes entfernt. Man wechselt deshalb das Wasser so oft, als es sich beim Kochen noch merklich färbt und eine schleimige Beschaffenheit zeigt. Bezüglich der weiteren Behandlung zur Glykogengewinnung hatte alsdann Clautriau den besten Erfolg, wenn er Pilzstücke erst bei 60—80° C, darauf bei 100° C trocknete, schließlich in einem eisernen Mörser fein pulverisierte und durch ein feines seidenes Sieb hindurchgehen ließ.

Alsdann wird das Pulver wiederholt mit schwach alkalischem Wasser (Aetzkali oder Aetznatron) ausgekocht und die Lösung

durch Dekantieren von den festen Bestandteilen getrennt; man erhält so eine mehr oder weniger stark schleimige Lösung, aus der nun durch weitere Behandlung hauptsächlich die noch vorhandenen schleimigen und gummiartigen Körper entfernt werden müssen. Deshalb weicht auch hier das Verfahren gänzlich von dem bei tierischen Organen angewandten ab, wo ja meist nur Eiweißkörper zu entfernen sind (s. oben).

Clautriau befreit nun die Glykogenlösung von der Hauptmenge der darin enthaltenen gummiartigen Körper, indem er 1—1,5 Proz. kristallisierte Soda in der Flüssigkeit löst und dann durch Zusatz einer ca. 5-proz. Chlorcalciumlösung darin einen gelatinösen Niederschlag von Calciumphosphat hervorruft, welcher im Niedersinken Schleim und Gummi mit sich reißt. Die Ausscheidung von Calciumphosphat wird vollständig gemacht, indem man die etwas sauer gewordene Lösung mit Ammoniak wieder alkalisch macht und langsam auf 80° C erwärmt. Die charakteristische Opalescenz einer Glykogenlösung tritt jetzt bereits deutlich hervor und je nach ihrer Beschaffenheit wird diese Fällungsmethode einige Male wiederholt.

Das Calciumphosphat reißt bei diesem Vorgange nicht nur die in der Flüssigkeit schwebenden Partikelchen mit nieder, sondern in ähnlicher Weise wie das koagulierende Eiweiß auf anderen Gebieten auch die in wirklicher Lösung oder doch in starker Verquellung befindlichen gummiartigen Körper, ohne jedoch dabei Glykogen mit einzuschließen, sofern dessen Lösung nicht zu konzentriert ist. Dabei gelingt es nun aber nicht, auch die letzten Reste von Schleim aus der Lösung in der angegebenen Weise zu entfernen, weil die Verdünnung derselben nunmehr zu groß geworden ist. Nach dem Vorgange Landwehrs setzt nun Verf. der Lösung pro Liter ca. 10—15 ccm einer konzentrierten Eisenchloridlösung und darauf im Ueberschuß Ammoniak hinzu. Der Niederschlag vom Eisenhydroxyd schließt alles Glykogen und den noch vorhandenen Schleim ein. Man löst ihn nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Wasser in verdünnter Salzsäure, verdünnt mit Wasser und fällt mit 2 Vol. Alkohol aus. Die Fällung enthält das Glykogen und Schleim; durch Auswaschen mit verdünntem Alkohol befreit man sie vom Eisen und löst wieder in Wasser, so daß die Lösung dem Volumen nach nur etwa den 4. Teil der ursprünglichen ausmacht.

Mit Calciumphosphatfällung wird nun in derselben Weise wie oben, daraus der Schleim wieder niedergeschlagen und aus der Lösung abermals in der eben beschriebenen Weise durch Fällung u. s. w. das Glykogen abgeschieden. Wenn dasselbe bei der letzten Füllung noch eine klebrige Beschaffenheit zeigt, so hat man den ganzen Reinigungsprozeß noch einmal zu wiederholen.

Das nunmehr schon ziemlich reine Glykogen wird in dem 10 bis 20-fachen seines Gewichtes Wasser gelöst und diese Lösung erst mit Kochsalz und dann mit so viel Ammoniumsulfat gesättigt, als sich bei gewöhnlicher Temperatur von letzterem noch löst. Aus dieser gesättigten Salzlösung scheiden sich, wenn man sie einige

Tage kühl hat stehen lassen, abermals weitere Mengen Schleim ab, während das Glykogen gelöst bleibt. Letzteres scheidet man schließlich aus der Flüssigkeit noch in Form seiner Jodverbindung ab.

Hierzu wird die Salzlösung mit etwa dem 10-fachen Volumen H_2O verdünnt und in starkem Ueberschuß eine konzentrierte Jodlösung (100 ccm Wasser, 5 g Jod, 10 g Jodkalium), welche zuvor ebenfalls mit Kochsalz gesättigt wurde, hinzugegeben. Bei richtiger Ausführung soll das Glykogen in Form seiner Jodverbindung vollständig abgeschieden werden, während eventuell noch vorhandener Schleim nicht mit gefällt wird. Man filtriert ab, wäscht mit 1-proz. Jodlösung aus, nimmt den Niederschlag in Wasser auf, entfärbt mit schwefeliger Säure oder einem Sulfit, filtriert abermals und versetzt das Filtrat mit 2 Vol. absolutem Alkohol. Diese Fällung muß einige Male wiederholt werden, weil das Glykogen anfangs immer noch eine beträchtliche Menge Salz enthält und auch mehr oder weniger gefärbt ist. Wenn die Färbung sehr hartnäckig verbleibt, so kann man sie dadurch entfernen, daß man nach Clautriau nochmals eine Fällung von Calciumphosphat hervorruft, wobei man aber am besten nur ca. $^1/_2$ Proz. Natriumphosphat zusetzt. Das Glykogen wird schließlich erst mit 60-proz., dann mit absolutem Alkohol gewaschen und im luftleeren Raume bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

Ganz nach dem größeren oder geringeren Schleimgehalte eines Pilzes ist natürlich eine mehr oder weniger häufige Wiederholung der einzelnen Phasen dieser immerhin komplizierten Darstellungsweise erforderlich. So ist sie beispielsweise gerade bei Boletus wegen seines hohen Schleimgehaltes sehr umständlich.

Um das Glykogen aus Hefe darzustellen, gewann Clautriau zunächst möglichst glykogenreiches Ausgangsmaterial in der von Laurent[1]) (s. auch oben) angegebenen Weise. Von einer kräftig entwickelten, bei 30° C gehaltenen Reinkultur wurde die überstehende Würze jeden Tag abgegossen und durch allmählich steigende Mengen frischer ersetzt, bis genügend Hefe gebildet war. Schließlich wurde eine reichliche Menge Würze mit einem Rohrzuckerzusatz von ca. 12 Proz. aufgegossen. In dieser Kulturflüssigkeit zeigten nach 5—10 Stunden die Zellen eine reichliche Glykogenaufspeicherung. Die Flüssigkeit wurde alsdann durch Aetzkali schwach alkalisch gemacht und die Hefe darin durch Kochen getötet. Nach deren Absitzen ersetzt man die Würze durch eine 1-proz. wässerige Alkalilösung, erwärmt damit und wechselt dieselbe so oft, wie sie sich noch merklich färbt. Man entfernt damit eine beträchtliche Menge des Hefegummis.

Um nun das Hefeglykogen extrahierbar zu machen, muß man ebenfalls wieder eine mechanische Oeffnung der Zellen vornehmen, die aber wegen der Kleinheit der Zellen erhebliche

---

1) Laurent, Emile, Études biologiques. Première partie. Recherches physiologiques sur les levures. (Annales de la société belge de microscopie. T. XIV. 1890; A. Kochs Jahresber. Ref. Bd. I. 1890. p. 54.)

Schwierigkeiten verursacht. Clautriau hat nun bei folgendem Verfahren die günstigsten Resultate erzielt: Die feinste Hefe wird mit dem doppelten Gewichte eines Gemenges von gleichen Teilen fein pulverisierter gefällter Kieselsäure und gefällten Calciumkarbonates innig vermischt und unter Zusatz von käuflichem Kaliwasserglas im Mörser zu einer homogenen Masse von der Konsistanz des Glaserkittes verarbeitet.

Aus dieser Masse wurden längliche Stücke von ca. 10 cm Länge, 4 cm Breite und 8—10 mm Dicke geformt und langsam an der Luft getrocknet, indem man sie zeitweilig mit stark verdünnter Wasserglaslösung anfeuchtete, sobald sie anfingen, rissig zu werden. Nach 8—10 Tagen wurde schließlich die Trocknung bei 30—40° C vollendet.

Diese „Hefesteine" werden auf einem kleinen, vermittelst eines Wassermotors gedrehten Mühlsteine verschliffen, wobei die Schnelligkeit des Steines sowie der Druck, welcher den Hefestein auf demselben festhält, so reguliert werden müssen, daß keine bemerkbare Erhitzung entsteht. Je langsamer nun das Zermalen vor sich geht, um so mehr Zellen werden geöffnet. Das erhaltene Pulver wird sodann mehrmals mit Wasser ausgekocht. Auf diese Weise erhält man eine schwach alkalische Lösung, welche neutralisiert und zur Gewinnung des Glykogens in derselben Weise wie die aus den Pilzen erhaltene behandelt wird.

Der Zusatz einer Natriumphosphatlösung zur Erzeugung einer Calciumphosphatfällung darf jedoch hier auf keinen Fall mehr wie 1 Proz. betragen; trotzdem reißen hier die ersten Fällungen, solange noch beträchtliche Mengen Hefegummi etc. in der Flüssigkeit vorhanden ist, oftmals ziemlich beträchtliche Mengen von Glykogen mit nieder.

In ähnlicher Weise wie in den vorstehenden Ausführungen nach Clautriau konnte nun Verf. selbst das Glykogen bei seinen bodenmykologischen Studien auch aus den Leibern der sogenannten Azotobacter-Organismen gewinnen. Es wurden eine Reihe besonders glykogenreicher (auf Grund der mikroskopischen Prüfung), üppiger Würzegelatinekulturen wie auch dicker Kahmhäute von flüssigen Kulturen dieser Organismen zur Glykogengewinnung verarbeitet; da es dem Verf. zunächst keineswegs darauf ankam, das Glykogen möglichst quantitativ zu extrahieren, sondern für ihn nur die Gewinnung von genügenden Mengen Glykogen zu seinem einwandfreien Nachweise in Betracht kam, so hat Verf. nach der Behandlung einer beträchtlichen Menge dieser Organismen mit einer ganz schwachen Aetzkalilösung, Erwärmen derselben auch keine „Hefestein"-ähnliche Masse hergestellt und weiterverarbeitet, sondern hat den abgesetzten, noch feuchten Azotobacterorganismentrub mit einem Gemenge von ungefähr gleichen Teilen gereinigtem, ausgeglühtem Sande und gefälltem Calciumkarbonat innig vermischt und die Masse bei mäßiger Temperatur (anfangs bei 30—40° C, später bei 50—60° C) langsam an der Luft getrocknet, in einem Porzellanmörser zerrieben, möglichst fein pulverisiert und in der oben angegebenen Weise weiterver-

arbeitet. Sehr viele Organismenzellen bleiben freilich bei diesem Verfahren noch intakt, zumal bei den besonders stark verschleimten Kulturen, und die Ausbeute an Glykogen ist natürlich nur eine mäßig große, immerhin aber war sie groß genug, um mit der gewonnenen Menge einige Reaktionen zum sicheren Nachweise des Körpers als Glykogen anstellen zu können; dieselben werden im nächsten Abschnitte mit besprochen werden.

Die direkte gewichtsanalytische Bestimmung des Glykogengehaltes von Pilzen und Mikroorganismen nach dem eingangs angegebenen Verfahren von Brücke und Külz[1]) eventuell mit der von E. Pflüger[2]) daran angebrachten Verbesserung liefert im allgemeinen wohl ganz zuverlässige Resultate, ist aber eine recht umständliche Arbeit. Clautriau[3]) schlägt deshalb für eine annähernde Bestimmung des Glykogens in Pilzen etc. eine auf die Jodreaktion gegründete kalorimetrische Methode vor. Dieses Verfahren besteht darin, durch wiederholtes Auskochen mit schwach alkalisch gemachtem Wasser das in einer gewogenen Menge der (zuvor getrockneten) Probe enthaltene Glykogen in Lösung zu bringen, darin dann in seine stark braune Jodverbindung überzuführen und schließlich auf seine Menge durch Vergleichung des Farbentones der Lösung der Probe mit demjenigen einer (mit Jod vorbehandelten Glykogenlösung) von bekanntem Gehalte zu schätzen.

Auf diese Weise wurde von Clautriau, auf Trockengewicht bezogen, 20 Proz. Glykogen in einer Probe von Steinpilz — Boletus edulis —, 14 Proz. in einer solchen von Fliegenschwamm — Amanita muscaria — und 31 Proz. in einer Hefe gefunden. Dieser letztere Befund steht in Uebereinstimmung mit einem anderen, zu welchem E. Laurent[4]) mittelst anderer Methoden schon mehrere Jahre zuvor gelangt war und wobei von mehreren Hefeproben die an Glykogen reichste ungefähr 32,6 Proz. aufwies[5]).

Im übrigen hat bei seinen Versuchen Clautriau die Extraktion des Glykogens sowohl aus Hefe, welche durch Hitze abgetötet worden war als auch aus solcher, welche mit Chloroform behandelt worden war, vorgenommen, jedoch keinen Unterschied zwischen

1) Vergl. hierzu auch Pflüger, E., Die Bestimmung des Glykogens nach Brücke und Külz. (Pflügers Arch. f. d. gesamte Phys. Bd. LXXV. 1899. p. 120; Chem. Centralbl. Ref. Bd. I. 1899. p. 1167.)

2) Pflüger, E., Eine neue Methode zur Bestimmung des Glykogens. (Pflügers Arch. etc. Bd. LXXVI. 1899. p. 531 und 543. Chem. Centralbl. Ref. Bd. II. 1899. p. 572 und 573.) Nach den weiteren Untersuchungen und Mitteilungen (cf. Pflügers Arch. Bd. LXXVI) hält sich jedoch der Verf. nicht mehr für berechtigt, die früher vorgeschlagene Korrektur an dem durch die verbesserte Külzsche Methode erhaltenen Werte anzubringen, sondern er hält die Resultate der Külzschen Methode für zuverlässig.

3) Clautriau, M., Etudes chimiques du glycogène chez les champignons et les levures. (Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique. 1895—1896. T. LXXI. p. 1; A. Kochs Jahresber. Ref. Bd. VI. 1895. p. 51.)

4) Laurent, E., Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez le levure de bière. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888. p. 113.)

5) cf. Lafar, E., Technische Mykologie. Eumycetengärungen. Jena (G. Fischer) 1893. Bd. II. p. 510.

beiden Produkten auffinden können. Infolgedessen hat derselbe weiterhin hauptsächlich höhere Temperaturen angewendet, welche gestatten, die Hefe viel vollständiger von den Salzen sowie von gummiähnlichen Stoffen zu befreien.

D. Einiges über die Physik und die Chemie des pflanzlichen Glykogens.

Die physikalischen und chemischen Eigenschaften des pflanzlichen Glykogens sind neben anderen Forschern besonders auch von Clautriau auf das eingehendste studiert und von ihm in seiner im vorigen Abschnitte erwähnten und schon teilweise erörterten Arbeit darüber genauere Mitteilungen gemacht worden. Aus dem umfangreichen Untersuchungsmateriale und dem Ergebnisse mag vielleicht folgendes hervorgehoben werden: Vor allem gibt es nach ihm kein differentielles Merkmal zwischen den Präparaten animalischen und vegetabilischen Ursprungs; vielmehr konnte er in allen Punkten die schon eingangs kurz erwähnten Schlußfolgerungen Erreras bestätigen. Weiterhin verhielten sich in allen seinen Versuchen die Glykogene in völlig analoger Weise, wenn sich auch in gewissen Charaktereigentümlichkeiten manche geringe Unterschiede feststellen ließen.

Nach Clautriau sind die Glykogene ternär zusammengesetzte, nicht stickstoffhaltige Substanzen, welche mit keinerlei Mineralstoffen kombiniert sind; ihre Pseudolösungen opaleszieren und verhalten sich den verschiedensten Reagentien gegenüber in völlig ähnlicher Weise. In allen diesen Lösungen wird das Glykogen durch die gleichen Körper, wie beispielsweise Alkohol, Essigsäure, gewisse neutrale oder basische Salze ausgefällt; ebenso verhalten sich, was nicht unwichtig ist, diejenigen Reagentien, welche ohne Einwirkung auf das animalische Glykogen sind, in durchaus der gleichen Weise gegenüber dem vegetabilischen.

Die chemische Zusammensetzung der Glykogene ist identisch und dürfte nach Clautriau bei allen der gleichen Formel und zwar $6(C_6H_{10}O_5) + H_2O$ entsprechen. Sie sind alle stark rechtsdrehend und weisen denselben Drehungswinkel $\alpha = 189{,}18^0$ auf: geringe Abweichungen, welche zuweilen beobachtet wurden, müssen wohl kleinen Versuchsfehlern zugeschrieben werden.

Wenn auf die verschiedenen, von Clautrian gewonnenen Glykogene Diastase oder verdünnte Mineralsäuren oder höhere Temperaturen einwirkten, so waren die Spaltungsprodukte die gleichen. Durch Speichel wird als Endprodukt wahrscheinlich Maltose, mit Säuren indessen Dextrose erhalten.

Weiterhin wurde von Clautriau sehr genau die Jodreaktion der verschiedenen Präparate studiert; dabei stellte sich die Unmöglichkeit heraus, durch dieselbe den animalischen oder vegetabilischen Ursprungs derselben zu erkennen; nur das Hefeglykogen bietet einen Unterschied bezüglich seiner Färbung und dem Temperaturgrad, bei welchem die Entfärbung herbeigeführt wird.

Das Hefeglykogen färbt sich nach Clautriau mit Jod ziemlich verschieden von dem Braunrot der übrigen Glykogene und zwar mehr braunviolett. Vor allem erscheint diese Färbung unter dem Mikroskop sehr deutlich, wenn man die Hefe mit einer sehr schwachen Jodlösung behandelt; noch besser erhält man diese Färbung, wenn man die in einem Wassertropfen verteilte Hefe ganz kurze Zeit in der Kälte Joddämpfen aussetzt, schließlich wird die Färbung intensiv braun, wenn Jod im Ueberschuß vorhanden ist.

Die Intensität der Färbung nimmt alsdann mit der Steigerung der Temperatur wieder schrittweise ab; während aber die übrigen Glykogene bei 58–60° C schon fast vollständig entfärbt sind, besitzt das Hefeglykogen merkwürdigerweise noch eine braune Farbe, welche etwa derjenigen einer 1-proz. Jodlösung entspricht. Bei 63—65° C ist die Färbung bedeutend schwächer; bei 72–73° ist das Hefeglykogen vollständig entfärbt.

Wenn man die Präparate abkühlt, so erscheint die Färbung wieder und zwar mit derselben Stärke wie bei den übrigen Glykogenen; übrigens üben diejenigen Substanzen, welche die Intensität der Färbung des Glykogens modifizieren, auch einen Einfluß auf den Temperaturgrad aus, bei welchen die Entfärbung erfolgt.

Wie nun die Blaufärbung der Stärke durch Jod nur bei Gegenwart von Jodwasserstoffsäure erfolgt, so ist in ähnlicher Weise für die Färbung des Glykogens „kombiniertes" Jod in bestimmter Menge notwendig. Die Ergebnisse der meisten Versuche lassen sich damit erklären, daß man eine leicht zerfallende Verbindung des Jods mit dem Glykogen annimmt. Die Annahme der Färbung unter dem Einfluß von Wasser, bestimmter anderer Körper sowie der Wärme findet in einer partiellen Zersetzung eine Erklärung.

Nach Clautriau sprechen alle Tatsachen dafür, daß die Jodverbindungen der Kohlehydrate nur Lösungen des Jods in diesen Körpern darstellen, jedoch nicht Lösungen im gewöhnlichen Sinne des Wortes. Es soll sich vielmehr um eine Fixierung des Jods durch die Moleküle der Stärke oder des Glykogens, also um eine „Absorptionserscheinung" handeln. Die Färbung mittelst Jod kann auch als „trockene Lösung" betrachtet werden.

Wenn sich nun auch die Jodverbindung des Hefeglykogens von den übrigen ein wenig unterscheidet, so erleidet es unter dem Einfluß des Wassers, der Alkohols, sowie gewisser Salze die gleichen Dissoziationen wie die Jodverbindungen der anderen Glykogene: unter gleichen Bedingungen verhalten sich alle in gleicher Weise.

Nach Clautriau bestehen, wie schon erwähnt, in Bezug auf gewisse Charaktereigentümlichkeiten der Glykogene nur einige geringe Unterschiede: So haben beispielsweise die getrockneten Präparate nicht immer das gleiche Aussehen; obendrein kann dasselbe auch bei ein und demselben Glykogene je nach der Darstellungsmethode wechseln; weiterhin ließ sich das Glykogen von Amanita durch Alkohol nicht in so leichten Flocken fällen wie dasjenige von Boletus und Phallus; allerdings gestaltet sich die Fällung viel besser, wenn man die Menge des Alkohols vermehrt. Zwei Eigentümlichkeiten trennen nach Clautriau das Hefeglykogen ein wenig

von allen anderen Glykogenen: nämlich die Opalescenz und die schon oben erörterte durch Jod hervorgerufene Färbung. Die Opalescenz ist bei diesem entschieden etwas schwächer als bei den anderen.

Diese Unterschiede sind jedoch keineswegs beträchtliche zu nennen; gleichwohl möchte Clautriau dieselben nicht äußeren Umständen zuschreiben, sondern dieselben vielmehr als der Natur des Kohlehydrates selbst anhaftend betrachtet wissen.

Was nun den in den sogenannten Azotobacter-Organismen, unter geeigneten Kulturbedingungen in außerordentlich reichlicher Menge vorkommenden Körper anbelangt, welcher auf Grund der Jodjodkaliumreaktion vom Verf. als Glykogen angesprochen wurde, so konnte mit der nach den Angaben im vorigen Abschnitte gewonnenen Menge folgendes festgestellt werden: Die wässerige Lösung des Körpers ist opalescierend, und man kann aus derselben mit Hilfe von Alkohol, Essigsäure etc. den Körper wieder ausfällen. In kaltem Wasser löst er sich nur schwer, indessen ziemlich leicht in warmem Wasser.

Wenn man den gewonnenen Körper mit verdünnten Mineralsäuren (Salzsäure, Schwefelsäure) behandelt, so kann man ihn in für Hefe gärfähigen Zucker überführen (Dextrose). In ähnlicher Weise verhält er sich, wenn man seine wässerige Lösung mit einer Gerstendiastaselösung und wenig Kochsalz behandelt: Durch das Kochsalz wird die diastatische Wirkung keineswegs aufgehoben, sondern der Körper wird schon nach relativ kurzer Zeit vollständig verzuckert, was man zunächst einmal schon durch Jodjodkaliumlösung direkt nachweisen kann, sofern nämlich keine Rotbraunfärbung mehr eintritt; ferner aber auch durch die eintretende starke Reduktion der Fehlingschen Lösung und nachträglichen positiv ausfallenden Gärversuch. Ohne Säure- bezw. Diastasebehandlung wird Fehlingsche Lösung durch den Körper nicht reduziert. Nun könnten allerdings zumal bei einer Säurebehandlung des Körpers sehr wohl auch ähnliche Stoffe gebildet werden, welche zwar Fehlingscher Lösung gegenüber reduzierend wirken, aber bekanntlich für Hefen nicht gärfähig sind, wie beispielsweise manche Pektinstoffe, Pentosen etc. Es wurden infolgedessen kleine Mengen des oben gewonnenen Körpers mit verdünnter Salzsäure bezw. mit Gerstendiastase behandelt und mit den erhaltenen Spaltungsprodukten Hefekulturflüssigkeiten hergerichtet. In kleinen sogenannten Gärkölbchen konnte durch Impfen mit Reinhefekulturen (Weinhefe Türkheim) und Bildung von Kohlensäure und Alkohol die Gärfähigkeit der erhaltenen zuckerartigen Spaltungsprodukte und damit die Ueberführung des ursprünglichen Körpers in gärfähigen Zucker, und zwar aller Wahrscheinlichkeit nach in Traubenzucker, nachgewiesen werden (s. auch später). Mit Salpetersäure kann man unter anderen den Körper auch zn Oxalsäure oxydieren.

Sowohl in älteren wie auch in jüngeren Kulturen von Azotobacter-Organismen, ebenso im extrahierten Zustande färbt sich der vorliegende Körper mit Jodjodkaliumlösung intensiv braun-

rot. Beim Erwärmen verschwindet die Färbung wieder, um nach dem Erkalten in nahezu alter Stärke wieder zum Vorschein zu kommen. Wenn man den fraglichen Körper in wässeriger Lösung (Opalescenz), weiterhin mit Essigsäure erwärmt, so verschwindet allmählich die vorhandene opalescierende Färbung, bis die Lösung vollständig klar wird. Dabei treten Fehlingsche Lösung reduzierende Substanzen auf, was also bereits für seine schließliche Ueberführung durch organische Säuren in Zucker (Dextrose?) spricht. Nach alledem dürfte es wohl keinem Zweifel mehr unterliegen, daß man in dem bei den Azotobacter-Organismen mit Jod sich braunrot färbenden, oftmals in sehr beträchtlichen Mengen vorkommenden Körper nichts anderes als Glykogen vor sich hat.

Wie auch schon Will in seinem diesbezüglichen Referate der Arbeit von Clautriau (cf Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. II. 1896. p. 434) schreibt, so ist nun allerdings die Frage nach der event. Mehrheit der Glykogene sehr schwer zu beantworten, um so mehr, als ja in der Literatur unter dem Namen „Glykogen“ vielfach auch noch verschiedene Gemenge angegeben sind; ein Glykogen muß jedoch vor allem die Zusammensetzung eines Kohlehydrates besitzen, während seine sonstigen Eigenschaften nur eine relative Bedeutung haben, insofern als nämlich die eine oder andere Eigenschaft sehr wohl aus gegenwärtig noch schwer zu erklärenden Gründen einmal ausbleiben kann.

Diese Charakterunregelmäßigkeiten dürften jedoch eine leichte Erklärung finden, wenn man nämlich ursprünglich nur ein einziges Glykogen annimmt, welches sich aber mit den Verhältnissen allmählich ändert und polymere Verbindungen bildet. Möglicherweise handelt es sich aber auch um isomere Körper. Weitere Untersuchungen über die Chemie des Glykogens dürften daher sicherlich auch über diese Frage mehr und mehr willkommenen Aufschluß bringen.

Kapitel III.

Ueber die Wiederverarbeitung des Glykogens durch niedere Organismen.

Bekanntlich weiß man gegenwärtig immer noch recht wenig darüber, in welcher Weise und in welchem Grade die uns hier besonders interessierende Substanz von niederen Organismen wieder verarbeitet werden kann; obendrein sind es vielfach auch noch recht ungenaue, zum Teil sogar direkt sich widersprechende Beobachtungen und Mitteilungen, welche über die etwaige Verarbeitung des Glykogens gemacht worden sind.

A. Bisherige Mitteilungen über die etwaige Spaltung des Glykogens durch Mikroorganismen.

Schon in Kapitel II ist bei Besprechung der Arbeit von Clautriau darauf hingewiesen worden, daß zumal bei Phallus impudicus möglichst bald nach dem Einsammeln der

Pilze eine Verarbeitung derselben zwecks Glykogengewinnung erfolgen muß, weil er unter der begünstigenden Einwirkung der in seinem Schleimmantel enthaltenen großen Wassermengen sein Wachstum auch ohne Mycel noch längere Zeit fortsetzt, so daß im Laufe eines Tages das gesamte Glykogen wieder verschwunden sein kann; bei Boletus edulis ist dies allerdings weniger der Fall, indem man hier eine merkliche Verminderung des Glykogens nur dann beobachtet, wenn der Pilz durch Schimmel u. s. w. in Zersetzung übergeht. Ueber die etwaigen Spaltungsprodukte ist jedoch nichts weiter gesagt worden. Wie alsdann Lafar[1]) weiterhin schreibt, wird man im Hinblick auf die amorphe Natur dieses Kohlehydrates zunächst allerdings von der von Laurent gemachten Angabe überrascht sein, daß die Hefenzellen fähig seien, das in einer Nährlösung enthaltene Glykogen aus dieser zu entnehmen und anzusammeln. Dieser Behauptung wurde übrigens auch zunächst durch Cremer[2]), später durch A. Koch und Hosaeus[3]) widersprochen.

Die letztgenannten beiden Forscher konnten nämlich an Preßhefe, an einer untergärigen Bierhefe und an der sogenannten Frohberg-Hefe, welche obendrein sehr gärkräftig ist, bei ihren eingehenderen Untersuchungen die Beobachtung machen, daß das dem Nährboden mit und ohne Traubenzuckerzusatz zugeführte Glykogen ohne jedwede Ausnutzung verblieb. Im besonderen haben die Verff. gefunden daß:

1) Anwesenheit von Glykogen in einer Nährlösung die Vermehrung der Hefe nicht wie es sonst gute Nährstoffe (z. B. Dextrose) tun, erhöht;

2) die dargebotenen kleinen Glykogenmengen auch nach langer Zeit unter dem Einflusse der verwendeten Heferassen aus der Nährlösung nicht verschwinden, während sie von verschiedenen Bakterien schnell zersetzt werden;

3) auf Kosten des Glykogens kein „Glykogen“ in der Hefezelle auftritt;

4) auf Kosten des in der Nährlösung enthaltenen Glykogens kein Alkohol von den drei Heferassen gebildet wird;

5) alle diese Erscheinungen auch die besonders gärkräftige Frohberg-Hefe zeigt;

6) die verwendeten Glykogensorten (aus Kalbsleber, Kaninchenleber und Preßhefe) die Hefeernte und die Menge des bei der Gärung gebildeten Alkohols sogar etwas vermindern, sowohl in schlechterer Nährlösung (Fleischextrakt), wie in sehr guter (Bierwürze);

7) daß die drei verwendeten Glykogensorten sich in allen angedeuteten Beziehungen qualitativ gleich verhielten, quantitativ hinsichtlich der Verminderung der Hefevermehrung kleine Unterschiede zeigten.

---

1) Lafar, F., Technische Mykologie. (G. Fischer) 1901. Bd. II. p. 517.

2) Cremer, M., Ueber die Umwandlung d. Zuckerarten etc. (Ztschr. f. Biologie. Bd. XXXI. p. 183.)

3) Koch, A. u. Hosaeus, Ueber das Verhalten der Hefen gegen Glykogen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. p. 145.)

Nach den vorstehenden Versuchen von A. Koch und Hosaeus vermögen allerdings die geprüften Hefen weder auf Kosten des gebotenen Glykogens sich zu ernähren, noch dasselbe zu speichern, noch auch endlich wieder zu vergären. Daß das Glykogen von den Hefen nicht direkt aufgenommen wird, soll nun nach den Verff. darin seine Erklärung finden, daß das Glykogen mit Wasser keine eigentliche Lösung, sondern nur eine Art dünnen Kleisters geben soll. Weiterhin scheiden aber nach den vorliegenden Untersuchungen die geprüften Hefen kein Ferment aus, welches aus tierischen oder Hefeglykogen diffusible gärungsfähige Substanzen bilde (während bekanntlich sonst gärungsfähige Zuckerarten aus Leberglykogen durch Fermente gebildet werden), denn sonst hätten sie, wie die Verff. schreiben, in ihren Glykogenkulturen Alkohol finden müssen. Aus ihren Mitteilungen geht aber nicht mit aller Bestimmtheit hervor, ob auch direkt auf eine etwaige Zuckerbildung (mit Fehlingscher Lösung und anschließendem neuen Gärversuch) geprüft worden ist. Allem Anschein nach ist dies nicht geschehen. Nach neueren Beobachtungen, auch des Verff. selbst, braucht bekanntlich bei Vorhandensein von gärungsfähigem Zucker in bestimmten Kulturflüssigkeiten übrigens gar keine Gärung, d. h. Alkohol- und Kohlensäurebildung aufzutreten, sobald nämlich vor allem der Stickstoffgehalt sehr gering oder auch sehr hoch ist. Mit einem bloßen Alkoholnachweise im negativen Sinne ist daher noch keineswegs eine Zuckerbildung ausgeschlossen. Freilich braucht unter Umständen unter den von Koch und Hosaeus gerade gewählten Kulturbedingungen auch keinerlei intermediäre, wenigstens keine nachweisbare Zuckerbildung aus Glykogen stattgefunden zu haben. Bei derartigen Prüfungen können übrigens der Zeitpunkt, nach welchem eventuell aller Stickstoff bezw. der größte Teil desselben aufgenommen worden ist, sowie ähnliche Momente nicht genugsam berücksichtigt werden.

Wie oben schon angedeutet wurde, so ist ja hinlänglich bekannt, daß unter dem Einflusse von Fermenten gärungsfähige Zuckerarten aus Leberglykogen entstehen; auch konnte bekanntlich durch Cemer[1]) später gezeigt werden, daß das von ihm isolierte Hefeglykogen durch Speichel, Pankreas und Diastase[2]) invertiert wird, und daß aus durch Aufkochen getöteter Bierhefe Speichel oder Diastase das Glykogen entfernen. Am Schlusse ihrer Mitteilungen, die selbstverständlich nur für die gerade innegehaltenen Kulturbedingungen Geltung beanspruchen können, äußern sich Koch und Hosaeus noch folgendermaßen: „Hingegen lassen unsere Resultate immerhin die Möglichkeit noch offen, daß Hefe das in ihrem Innern aus diffundierenden Zuckerarten oder auf andere Weise entstandene Glykogen mit oder ohne vorhergegangene fermentative Umwandlung zu vergären vermag, wie die herrschende Selbstgärungshypothese annimmt. Aber unsere Resultate scheinen uns immer-

1) cf. die diesbez. Mitteilung in Münchener Medizin. Wochenschrift. 1894. No. 26.

2) Nach Laurent bildet übrigens Hefe auch etwas Diastase. (cf. Kochs Jahresbericht. 1890. p. 57.)

hin zur Vorsicht zu mahnen bei der Annahme dieser Hypothese und zu weiteren Prüfung derselben aufzufordern. Inzwischen war alsdann eine Arbeit von Chudiakow[1]) „über alkoholische Gärung" erschienen; nach ihm soll Hefe überhaupt nur „Selbstgärung" zeigen, wenn derselben Glukose zur Verfügung steht. Diese Glykose könne aus den Hefezellen selbst stammen, wenn die Hefe in zuckerhaltiger Flüssigkeit vorkultiviert wurde, oder sie durch der Hefe beigemengte Bakterien aus dem Schleime, den die Hefe sezernierte, oder aus dem aus absterbenden Hefezellen heraustretenden Glykogen gebildet werden. Diese Resultate würden allerdings in gewisser Beziehung indirekt die Befunde von Koch und Hosaeus bestätigen. Die Frage der „Selbstgärung der Hefe" dürften jedoch auch damit noch keineswegs eine vollständig befriedigende Lösung gefunden haben.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse [2]).

Von Prof. Dr. med. **C. Gorini,**

Direktor des bakteriolog. Laboratoriums der k. landw. Hochschule zu Mailand.

(Mit 1 Tafel.)

Seitdem Cohn[3]) und Duclaux[4]) die Intervention der Bakterien bei der Käsereifung gezeigt haben, haben viele Forscher die verschiedenen Qualitäten von Käse der bakteriologischen Untersuchung unterworfen. Diese Untersuchungen, welche nach den gewöhnlichen kulturellen Methoden von R. Koch ausgeführt wurden, enthüllten uns manche interessante Tatsachen über die ungeheuere Menge der im Käse enthaltenen Bakterien, über ihre Natur und über ihr Schicksal je nach den Reifungsstadien, nach der Behandlung der Käse u. s. w.

Niemand aber hat sich meines Wissens[5]) bisher damit beschäftigt, zu untersuchen, in welcher Weise diese Keime im Käse sich verteilt finden, so daß man aus dem Stillschweigen der Autoren und aus der von ihnen befolgten Methode für die quantitativen bakteriologischen Analysen eruieren könnte, daß die Bakterien in der Käsemasse gleichförmig zerstreut sind.

Mit einem systematischen bakteriologischen Studium des Grana-

---

1) v. Chudiakow, N., Untersuchungen über die alkoholische Gärung. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXIII. 1894. p. 391.)

2) Diese Arbeit wurde am 27. Dezember 1903 im „Reale Istituto Lombardo di Scienze e Lettere" von Mailand vorgetragen.

3) Beiträge z. Biologie der Pflanzen. Bd. I. 1875. Heft 3.

4) Annales agronomiques. 1878.

5) Ich hatte mein Manuskript bereits abgegeben, als ich mit Vergnügen in diesem Centralblatt (II. Abt. Bd. XI. p. 212) las, daß Frau Gerda Troili-Petersson dieselbe Idee wie ich gehabt hat, eine Uebersicht über die Lage der Bakterien im schwedischen Güterkäse durch Schnittpräparate zu gewinnen. Ferner freut es mich, zu konstatieren, daß die Resultate von dieser Forscherin im wesentlichen mit den meinigen über Granakäse übereinstimmen.

käses (Parmesankäse, Typus von Lodi[1]) beschäftigt, hielt ich es vor allem für wichtig die Verteilung der Bakterien in diesem Käse kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke habe ich den Käse als ein durch Bakterien invadiertes Gewebe betrachtet, und ihn sowohl im frischen als auch im durch Alkohol gehärteten Zustande nach der üblichen histologischen Technik sektioniert und montiert. Die Härtung durch Alkohol ist sehr zweckentsprechend, namentlich wenn es sich um frischen, in diesem Zustande nur schwer zu zerschneidenden Käse handelt, und ebenso wenn man die Schnitte färben will, um die darin enthaltenen Bakterien besser erkennen zu können.

Ich habe eine große Reihe von solchen Schnittpräparaten unter dem Mikroskop untersucht, welche mit verschiedenen, aus verschiedenen Orten stammenden und zu verschiedenen Reifungszuständen gehörenden Käsen angefertigt worden waren. Auf Grund dieser Untersuchungen konnte ich feststellen, daß die Bakterien sich in zwei Formen verteilt finden, nämlich in einer Form, die man Zerstreuungsform (Fig. 1a) nennen kann, bei welcher die Bakterien fast gleichförmig oder höchstens in ganz kleinen Büscheln in den Maschen des Käses zerstreut sind; und in einer zweiten Form, die man Anhäufungsform (Fig. 1b) nennen kann, bei welcher die Bakterien sich in großen Mengen hier und da angehäuft finden, so daß sie echte Kolonieen wie diejenigen der üblichen Plattenkulturen bilden. Diese beiden Verteilungsweisen sind sichtbar, wenn man die z. B. mit Methylenblau gefärbten Schnitte bei starker Vergrößerung beobachtet (Fig. 1); untersucht man aber die Schnitte bei schwacher Vergrößerung (50 Diam.), so bemerkt man nur die Bakterienhaufen, so daß es wirklich scheint, als ob man unter dem Mikroskope eine Plattenkultur mit Kolonieen habe (Fig. 2).

Während die erste Verteilungsform ziemlich gleichförmig ist, insofern als alle Schnitte desselben Käses in fast gleichem Maße durch zerstreute Bakterien invadiert sind, ist die zweite Form je nach den Schnitten sehr veränderlich; in einigen Schnitten sind die Kolonieen sehr zahlreich, in anderen aber spärlich; in einigen Punkten sind sie einander genähert, in anderen Punkten voneinander entfernt; bald groß, bald klein, und dies alles bei demselben Käse und ohne Beziehung zu den verschiedenen Lokalitäten. In der Tat konnte ich keine merklichen und beständigen Verschiedenheiten zwischen den peripherischen und den zentralen Teilen des Käses konstatieren. Ich hatte gedacht, daß eine Beziehung zwichen den Bakterienhaufen und den kleinen Rissen und Löchern existieren könnte, die ich in den Schnitten hier und da beobachtete; aber auch in dieser Beziehung ist es mir nicht gelungen, konstante Tatsachen aufzufinden. Viele Oeffnungen sind zwar von Bakterien eingenommen (Fig. 1c), aber viele andere erscheinen ganz oder fast ganz leer. Ferner kommen große Bakterienhaufen selbst außerhalb der Oeffnungen, ganz genau in der kompaktesten Käsemasse vor (s. die Bakteriengruppe b, welche in der Fig. 1 unten liegt).

1) Dieser Typus von Granakäse ist ziemlich verschieden von einem anderen Typus derselben Käseart, der in Reggio-Emilia hergestellt wird.

Beim ganz frischen Käse herrscht die Zerstreuungsform vor; ihre Menge nimmt mit dem Vorschreiten der Reifung ab, während die Gruppierungsform mehr und mehr hervortritt.. Man kann sagen, daß die Bakterienvermehrung, welche zuerst durch die ganze Masse vor sich geht, in der Folge vorzugsweise auf bestimmte Stellen sich konzentriert wodurch die Kolonieen an Zahl und Größe zunehmen.

Diese Tatsache kann eine Erklärung in einer ungleichmäßigen Austrocknung des Käses finden; infolge deren die Vermehrung der Bakterien an denjenigen Stellen üppiger wäre, wo das Serum länger eingeschlossen bleibt. Man darf aber auch die verschiedene Entwickelungsfähigkeit nicht vergessen, die die verschiedenen Bakterienarten in gewissen Medien zeigen; desgleichen nicht die verschiedene Wirksamkeit, die die einzelnen Individuen derselben Art zeigen. Es ist in der Tat wohlbekannt, daß selbst bei den gewöhnlichen Plattenkulturen, je nach dem Medium sich vorzugsweise bestimmte Arten zum Nachteil anderer Arten entwickeln, und daß unter den Repräsentanten ein und derselben Art in derselben Plattenkultur einige Individuen große Kolonieen bilden, andere kleine und sehr kleine, andere sogar nicht einmal dahin kommen, wahrnehmbare Kolonieen zu erzeugen; und diese Tatsache findet nicht immer ihre Ursache in der verschiedenen Tieflage, noch auch in anderen offenbaren Umständen, außer einer verschiedenen individuellen Fruchtbarkeit unter den gegebenen Bedingungen.

Daher scheint es mir, daß die Bildung von Bakterienanhäufungen im Käse, wenigstens zum Teil, als Ausdruck einer besseren Anpassung gewisser Bakterienarten und gewisser Individuen an die Entwickelungsverhältnisse betrachtet werden kann. Diese Auffassung neben anderen Ueberlegungen hat mich zur Isolierung einer Klasse von Fermenten geführt, deren Wirkung bei der Herstellung des Granakäses von mir gegenwärtig in einer Käserei, die mir seitens einer von der Regierung unterstützten Gesellschaft von Landwirten zur Verfügung gestellt worden ist, untersucht wird.

Von Interesse ist hier, daß die Unregelmäßigkeit der Mikrobenverteilung in den Käsen von einer nicht zu unterschätzenden Wichtigkeit für die quantitative bakteriologische Analyse des Käses ist. Man weiß in der Tat, daß diese Analyse in unvermeidlicher Weise mangelhaft ist, denn der Käse ist unlöslich in Flüssigkeiten, welche für das Bakterienleben unschädlich sind. Infolgedessen kann man, da man sich mit einer einfachen Verreibung des Käses im Wasser oder in Bouillon begnügen muß, nie, namentlich mit frischen und harten Käsen, eine so homogene und feine Emulsion erhalten, daß alle Keime frei werden und auf den Plattenkulturen sich entwickeln können. Mag man die Zerreibung auch mit der größtmöglichen Sorgfalt ausführen; anstatt das Material ganz einfach in Kölbchen mit einem Glasstäbchen zu verreiben (wie es die meisten Untersucher tun), mag man, dem Rat von Russell und Weinzirl[1]) folgend, das Material im Mörser mit Hilfe einer fein zerriebenen

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897.

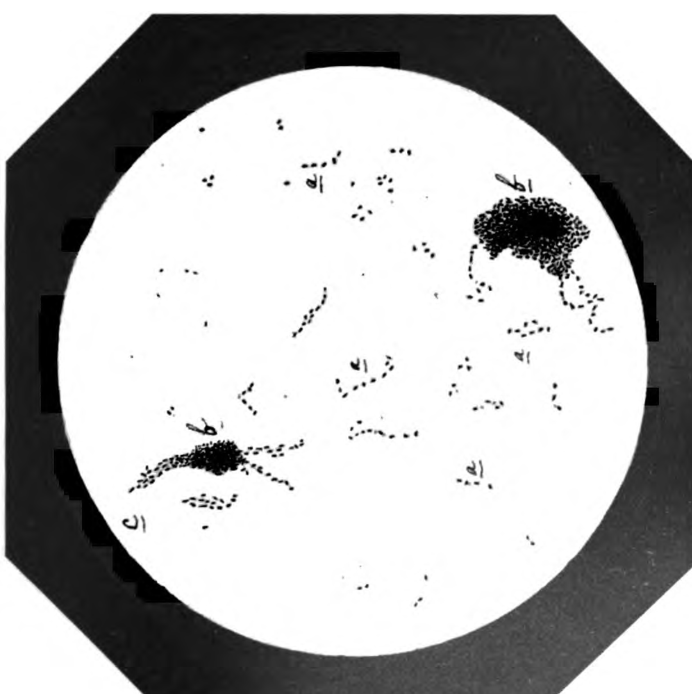


Fig. 1.
Schnitt von einem 50 Tage alten Granakäse. Vergr. 500 fach
a) Zerstreute Bakterien. b) Angehäufte Bakterien (Kolonieen).
c) Oeffnung.

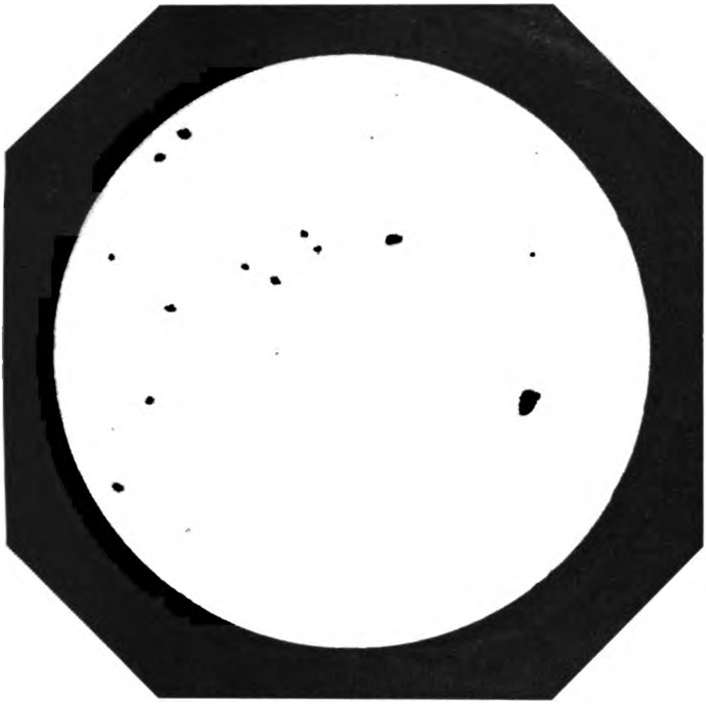


Fig. 2.
Schnitt von demselben Käse der Fig. 1. Vergr. 50 fach. (Man bemerkt nur die Bakterienhaufen oder -Kolonieen, welche von verschiedener Größe und Verteilung sind.)

Substanz (Sand, Zuckerpulver, Glaspulver etc.) verreiben; so wird nichtsdestoweniger das Zerstückeln immer nur unvollständig und unregelmäßig gelingen; ungeachtet aller Sorge die sämtlichen Käseproben in gleichem Maße zu verreiben, spielt der Zufall immer eine nicht zu vernachlässigende und nicht bestimmbare Rolle. In der Tat schreiben die Autoren die widersprechenden und anders nicht zu erklärenden Resultate, welche sie bei den bakteriologischen Analysen erhalten haben, dieser Fehlerquelle zu. Infolgedessen, wie übrigens dieselben Untersucher anerkennen (von Freudenreich[1]), O. Jensen[2]), Russel und Weinzirl[3]) u. a.), können die Bakterienzählungen, die mittelst solchen Käseemulsionen ausgeführt werden, keinen absoluten Wert haben, noch zu exakten Vergleichungen zwischen verschiedenen Proben dienen, sondern bloß um annähernde quantitative Kriterien zu erwerben[4]).

Wenn man nun dem ungleichmäßigen Zerstückeln des Materials noch die Ungleichmäßigkeit der Verteilung der Bakterien in demselben hinzufügt, versteht man sehr leicht, daß die Unsicherheit der numerischen Bestimmungen noch um vieles zunimmt. Verschiedene Proben von demselben Gewicht und von demselben Käse werden sich ungleich reich an Bakterien zeigen, nicht nur je nach der Proportion der Individuen, die durch die Verreibung in freien Zustand gebracht werden, sondern auch je nach der Menge und der Größe der Bakterienhaufen, die in jeder Probe enthalten sind.

Offenbar ist es nicht möglich, bei den einzelnen Fällen zu definieren, welcher Fehleranteil auf jede der beiden obengenannten Ursachen fällt; gewiß aber wird der aus der unregelmäßigen Mikrobenverteilung herrührende Fehler verringert werden, wenn man nicht zu kleine Quantitäten von Käse untersucht. Darüber aber, und über andere Regeln, die mir zur Verbesserung der bakteriologischen quantitativen Analyse der Käse tauglich scheinen, werde ich bei einer anderen Gelegenheit berichten. Fasse ich jetzt die Resultate der obengenannten Untersuchungen zusammen, so ergibt sich Folgendes:

Untersucht man den Käse durch Schnittpräparate nach der von mir vorgeschlagenen Methode, konstatiert man:

1) Daß der Granakäse (Parmesankäse, Typus von Lodi) wirklich als eine Kultur von Bakterien betrachtet werden kann, welche sich zum Teil in zerstreutem Zustande, zum Teil in Kolonieen von verschiedener Größe und von unregelmäßiger Anordnung angehäuft finden;

2) daß diese ungleichmäßige Verteilung der Bakterien dazu beiträgt, die Fehlerquellen der bakteriologischen quantitativen Analyse des Käses zu erhöhen.

Mailand, 15. November 1903.

1) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1891. p. 19. 1894. p. 209.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.
3) Loco citato.
4) Siehe auch die neueste Arbeit von Harrison nnd Connell (dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XI. p. 637), wo die Verff. eine ungleichmäßige Verteilung der Bakterien im Cheddarkäse vermuten, ohne aber die Demonstration davon zu geben.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Buttersäurebacillen für den Reifungsprozess der Hartkäse.

[Aus dem Hygiene-Institut der K. Universität Rom.]

Von Dr. med. **A. Rodella.**

IV.

Die von uns mitgeteilten Befunde über das regelmäßige Vorkommen von Putrificus-Arten in Hartkäsen neben den anderen Varietäten von Buttersäurebacillen mögen vielleicht keine Beachtung gefunden haben, weil sie im Gegensatz zu den von den meisten Forschern vertretenen Ansichten stehen.

Wir halten es daher für notwendig, auf Grund unserer Untersuchungen die Bedeutung der Buttersäurebacillen für den Reifungsprozeß der Käse zu besprechen.

Daß neben Thyrotrix-Arten auch einige Formen von Buttersäurebacillen bei Reifung der Käse tätig sind ist längst vermutet worden. Die von Weigmann mit der gemeinschaftlichen Benennung „Casease Bacterien" bezeichneten Mikroorganismen umfassen alle diejenigen Bakterien, die durch Ausscheiden eines peptonisierendcn Enzymes „casease" das Kasein löslich zu machen im stande sind. Aber auch die Ansichten der Vertreter der casease-Bakterientheorie (von Freudenreich kurzweg die Thyrotrix-Theorie genannt) entsprechen nicht ganz den Resultaten unserer Untersuchungen, weil bekanntlich die Anhänger der genannten Theorie von den bei dem Käsereifungsprozeß wirksamen Fermenten die Fähigkeit verlangen, den Käsestoff löslich zu machen, ohne jedoch eine vollständige Fäulnis hervorzurufen.

Da der Bacillus putrificus (Bienstock) mit Recht als ein fäulniserregender Bacillus angesehen wird, so halten wir es für nötig, manche Zweifel über seine Rolle zu beseitigen.

Schon Bienstock wies in seinen grundlegenden Arbeiten darauf hin, daß frische Milch, mit Putrificus geimpft, weder unter aëroben noch unter anaëroben Verhältnissen fault. Er sagt nämlich: Wurde im Gegenteil statt sterilisierter Milch gewöhnliche Rohmilch mit oder ohne Fibrin u. s. w. durch einen der putrifizierenden Anaërobier selbst in sehr reichlicher Menge infiziert, so blieb die Fäulnis aus und es traten nur die gewöhnlichen Veränderungen ein, die bei längerem Stehen der Milch vor sich gehen.

Diese Frage war für unsere Aufgabe sehr wichtig und stellten wir daher Versuche darüber an. Zu diesen diente uns eine Putrificus-Kultur, die uns vor ca. einem Jahr Herr Dr. Bienstock in liebenswürdiger Weise zugeschickt hatte. Ferner benützten wir die aus den Käsen gezüchteten Putrificus-Stämme. Mit diesen Kulturen prüften wir zunächst das Eiweißzersetzungsvermögen nach verschiedenen Methoden. Nach den Angaben von Achalme haben wir zuerst 8 bis 10 kleingeschnittene Würfel hartgekochten Eiereiweißes mit 3 ccm Wasser in einem Gruber-

schen Röhrchen auf 120° sterilisiert. Sodann sterilisierten wir Rinderblutserum bei 100°. Das Resultat dieser Untersuchungen war, daß unsere Kulturen gleichwie diejenige des Herrn Dr. Bienstock ein ziemlich hohes Eiweißzersetzungsvermögen aufweisen.

Dann machten wir Versuche mit Milch, wofür auch ausschließlich Grubersche Röhren in Verwendung kamen. In diese Röhren gossen wir 10 ccm so frisch als möglich gekaufte Milch. Mit einer Pasteurschen Pipette wurden sodann aus einer üppig entwickelten Putrificus-Agarkultur einige Tropfen entnommen und in die Milch eingeimpft. Dann stellten wir das Vacuum her, und zwar so streng als es sich eben erzielen ließ, schmolzen die Gruberschen Röhrchen zu und brachten sie in Thermostaten, wo sie bei 37° gelassen wurden. Viele Untersuchungen wurden doppelt gemacht, indem eine Kultur in eine Temperatur von 20°, die andere in eine solche von 37° hineingebracht wurde. Die Resultate unserer Untersuchungen waren folgende: Die Kulturen von 20° zeigten nach 2—3 Tagen eine ziemlich großes Coagulum. Spuren einer deutlichen Gärung zeigten sich nicht und selbst nach einigen Wochen zeigte das Coagulum nur geringe Veränderungen. Die bei 37° gelassenen Kulturen ergaben Resultate, die diejenigen von Dr. Bienstock ähnlich sind, jedoch nicht ganz gleich.

Was die oben angeführten Worte Bienstocks anbetrifft, so haben unsere Resultate diesen Satz nicht als berechtigt erscheinen lassen, denn, wenn wir auf 10 ccm frische Milch 1 ccm einer Agarkultur einimpften, so zeigte sich nach 5—6 Tagen eine vollständige Peptonisierung des Kaseins der Milch, und was noch wichtiger ist, die Kulturen ergaben eine stark sauere Reaktion [1]). Impften wir nur einige Tropfen, so zeigte sich schon nach 12 bis 16 Stunden eine Gerinnung der Milch. Gewöhnlich war das Gerinnsel in dem oberen Teile des Röhrchens; verschiedene Male beobachteten wir, wie sich das Coagulum gleich wie die Maschen eines Netzes an den Wandungen des Röhrchens festgesetzt hatte, wieder andere Male zog es sich durch die ganze Röhre hin, die Wandungen völlig bedeckend. Am Boden des Reagensglases waren immer mehr oder weniger Kaseinbröckchen vorhanden. Es soll hier ferner etwas näher berichtet werden über die Versuche, welche wir mit unseren Putrificus-Stämmen in saueren Lösungen gemacht haben. Diese Versuche scheinen uns um so wichtiger da Chodat und Hofmann-Bang nachgewiesen haben, daß durch Lab gefälltes Kaseïn von den Milchsäurebakterien nicht angegriffen wird. Diese Bakterien sind nicht einmal im stande, bei Luftabschluß das durch casease etwas veränderte Kasein aufzulösen.

Andererseits wollen Freudenreich und seine Schüler nach-

1) Eine ähnliche Beobachtung hat vielleicht schon Achalme gemacht. Er sagt nämlich: Si, en effet, on se sert d'une culture sporulée contenant, par resorption de corps microbiens de la trypsine à l'etat libre, cette dernière peut agir sur l'albumine avant que la fermentation de l'hydrate de carbone ait produit une acidité suffisante pour en empêcher l'action et alors la culture s'oriente d'une manière toute differente.

gewiesen haben, daß Thyrotrix-Bacillen in saurem Boden sich nicht entwickeln und viele darunter nach kurzer Zeit in demselben sogar absterben.

Daß Putrificus-Arten in saurer Umgebung gut gedeihen, ist schon von Bienstock mitgeteilt worden. Die Anpassungsfähigkeit der verschiedenen Stämme zu den sauren Substraten ist allerdings sehr verschieden. Wir haben gefunden, daß 0,1 Proz. Milchsäure von allen Stämmen sehr gut vertragen wird; sie sterben selbst in $^1/_2$ bis 1 Proz. Milchsäurebouillon nicht ab. Was das Eiweißzersetzungsvermögen des Bacillus putrificus in sauren Flüssigkeiten anbetrifft, so ist dasselbe bei den verschiedenen Stämmen ebenfalls verschieden.

Durch unsere Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß sämtliche nachgeprüfte Putrificus-Arten auf 120° sterilisiertes und in verschiedenen sauren Nährlösungen suspendiertes Kasein leichter und tiefer angreifen als frisches Kasein. Diese Tatsache würde nach unserer Meinung dafür sprechen, daß das Kasein von hohen Temperaturen in seiner chemischen Zusammensetzung verändert wird, was wiederum von den Untersuchungen von Conradi auch auf anderem Wege wahrscheinlich gemacht wird.

Die vom B. putrificus hervorgerufenen Veränderungen des Parakaseins treten ebensogut bei 37° als bei 20° auf, nur gehen sie bei der letzteren Temperatur etwas langsamer vor sich.

Impft man in der Tat den B. putrificus in 0,2—0,3-proz. Milchsäurebouillon reichlich ein, in die einige Klumpen sterilisierten Parakaseins hineingetan wurden, so erfährt dieser Eiweißstoff nach Verlauf einiger Wochen eine deutliche Erweichung. Zum Teil ist aber dasselbe schon früher von den Bacillen aufgelöst worden.

In steriler Milch kommt es bei Zusatz der gleichen Quantität von Milchsäure viel seltener zu einer tiefgehenden Zersetzung des Kaseins, was wir auf den Umstand zurückführen, daß B. putrificus durch Vergärung des Milchzuckers einen starken und raschen Ueberschuß von Säure bildet, der die Entwickelung dieses Bacillus hemmt.

Wie verhält sich aber sonst dieser Bacillus in nicht saurer sterilisierter Milch?

So beschreibt Bienstock seine diesbezüglichen Untersuchungen: „Schon nach 2—3 Tagen zeigten sich die Veränderungen in der Milch. Stinkende Gasblasen begannen die Rahmschicht zu zerreißen und die Milch verwandelte sich langsam in ein außerordentlich übelriechendes gelbbraunes Serum. Die Gasentwickelung nimmt allmählich ab, der Fäulnisgeruch macht dem von Fettsäuren Platz und nach mehreren Wochen besteht die Milch aus der bis auf die Zerreißung durch Gase unveränderten Rahmschicht einerseits und dem mehr oder weniger geklärten Serum andererseits, an dessen Boden ein Satz, bestehend aus spärlichen Kaseinbröckeln und Putrificus-Sporen, lagert.“ Ist diese Schilderung eine konstante Erscheinung? Der Spruch, keine Regel ohne Ausnahme, findet bekanntlich in der Bakteriologie leider nur zu oft seine volle Geltung.

Wir finden in der Tat manchmal eine solche Steigerung der

proteolytischen Eigenschaften dieses Bacillus, daß in 2 Tagen die Milch vollständig peptonisiert wird. Andere Male zeigte der B. putrificus eine ausgesprochene Tendenz, das Kasein zu koagulieren, so daß dasselbe niemals vollständig in Lösung gebracht werden konnte. Soll man sich dieses verschiedene Verhalten nur durch eine Aenderung der biologischen Eigenschaften dieses Mikroorganismus erklären? Oder sucht man am besten die Gründe dazu in einer wahrscheinlich chemisch kaum nachweisbaren Verschiedenheit in der Zusammensetzung des Nährbodens? Diese Fragen veranlassen uns, etwas ausführlicher über die Widerstandskraft der rohen Milch gegen Fäulnis zu berichten.

Die sehr lückenhaften und bescheidenen Kenntnisse über die Chemie der Eiweißkörper im allgemeinen und speziell über die von der chemischen Wirkung der proteolytischen Fermente auf dieselben erzeugten Produkte können die großen Meinungsverschiedenheiten bezüglich dieser Frage erklären.

Tissier, der vergleichende Studien über Fleischfäulnis und Milchfäulnis gemacht hat, kommt zu dem Schlusse, daß beide Vorgänge sowohl vom bakteriologischen als auch vom chemischen Standpunkte aus im Grunde genommen gleich sind.

„Les différences", sagt er, „(longue durée, fetidité moindre, présence essentielle de moisissures) sont dues à la qualité et à la nature du sucre du lait, exigeant, pour sa destruction, la présence de ferments très actifs, dont les déchets géneront la destruction de la caseïne et à la nature de cette albumine en solution ou en suspension, dans un liquide aére. Cet ensemble de circonstances rend nécessaire la présence de moisissures, gêne l'action des anaérobies protéolytiques qui, lorsque le milieu leur sera redevenu favorable, auront perdu leur activité première".

In der Tat wissen wir aber noch nicht, was wir unter dem Namen Fäulnis zu verstehen haben. Wir wissen z. B. nicht, ob Schwefelwasserstoffbildung allein bereits Fäulnis anzeigt, wir wissen nicht, welcher Grad des Abbaues der Eiweißkörper den Namen Fäulnis zu tragen berechtigt ist. Wir wissen nicht, ob die von Tissier und seinen Mitarbeitern beobachteten Zersetzungen sich auch qualitativ oder nur quantitativ, d. h. durch einen auf demselben Wege, aber weniger intensiv vor sich gehenden Prozess unterscheiden: In diese wichtigen wissenschaftlichen Erörterungen wollen wir hier jedoch nicht abschweifen, sondern kommen wir auf unsere Hauptfrage zurück: Was verleiht der rohen Milch die Widerstandsfähigkeit gegen tiefgehende Zersetzung? Kommen nur die von Tissier erwähnten Faktoren in Betracht? Sind dieselben überhaupt von großer Bedeutung?

Schon ehe bekannt war, welche Rolle die Anaërobier bei Eiweißzersetzungen spielen, hatte man versucht, eine Erklärung darüber zu geben.

Bekanntlich hat Blumenthal die Ansicht vertreten, daß die aus der Milchzuckergärung gebildete Milchsäure das ausführende Moment der Fäulnishemmung wäre. Dieser Behauptung schlossen sich viele Forscher an und neulich auch die zwei französischen Autoren Achalme und Tissier.

Ein Gegner dieser Ansicht war Hirschler, welcher aber keine stichhaltigen Beweise erbringen konnte.

Wichtig scheint uns die von Auerbach unter Leitung von Lehmann-Würzburg gemachte Arbeit. Auerbach kommt zu folgendem Schlusse: „Da also Alkalizusatz die Zuckerhemmung weder verhütet noch beseitigt, obwohl die gebildete Säure gebunden wird, der Zucker aber auf einmal gebildetes Trypsin keinen Einfluß hat, so kann die gehemmte Verflüssigung keine Säurewirkung sein, sondern muß darauf beruhen, daß bei Zuckerzusatz zum Nährboden kein proteolytisches Ferment gebildet wird.“ Da es uns zu weit führen würde, diese Frage von einem allgemeinen Gesichtspunkte aus zu behandeln, so wollen wir dieselbe etwas näher präzisieren durch die Worte: Was hindert den B. putrificus daran, die rohe Milch so zu verändern, wie er dieses für die sterile Milch tut? Bienstock, der als erster sich die Frage gestellt hat, nahm an, daß die in der rohen Milch enthaltenen Coli- und Aërogenes-Arten durch eine Art von Antagonismus die Entwickelung des Putrificus verhindern.

Daß, die von diesen beiden Bakterien hervorgerufene antagonistische Wirkung nicht ausschließlich eine Säurewirkung wäre, glaubte Bienstock durch den Umstand bewiesen zu haben, daß andere Arten ebenfalls Säurebilder sind (wie z. B. Proteus, Prodigiosus u. s. w.), die Fäulnis zu hemmen nicht im stande sind. Die über diesen Gegenstand ausführlichen Untersuchungen Bienstocks gestatten ihm den Schluß, daß, wenn auch die Säure bei der Fäulnisresistenz der Milch eine große Rolle spielt, daneben doch noch andere Kräfte mitwirken, Kräfte, welche speziell diesen beiden Bakteriengruppen (B. coli und B. lactis aërogenes) an sich eigentümlich sind und schwächend auf die Fäulnisanaërobier direkt einwirken.

Tissier, der die Untersuchungen von Bienstock wiederholte, fand daß „cette force antagoniste (von B. coli und B. lactis aërogenes) est due uniquement à la quantité des acides qu'ils produisent“.

Andererseits muß ins Auge gefaßt werden, daß das rohe Kasein weniger Säure zu binden imstande ist als gekochtes Kasein, was auch für die Herstellung von Kasein aus steriler Milch in Betracht fällt. Schon längst hatte Kabrhel ermittelt, daß aus Milchzucker gebildete Milchsäure durch Parakasein gebunden wird. Nun haben die neuerlichen Arbeiten von Sidler und Silberschmidt ermittelt, daß einige säurebildenden Bakterien, je länger eine Milch erhitzt war, und je höher die angewandte Temperatur war, um so mehr Zeit brauchen, um dieselbe Milch zur Gerinnung zu bringen. Die Verspätung in der Gerinnung der lange Zeit bei einer hohen Temperatur erwärmten Milch rührt wohl davon her, daß dieselbe eine größere Menge von Säure zur Gerinnung beansprucht.

Wir haben schon in einem früheren Berichte die von Tissier vorgeschlagene Einteilung der Fermente in Ferments simples et Ferments mixtes angeführt, weshalb wir hier auf dieselbe nicht

näher eingehen wollen. Achalme hat zehn verschiedene Stämme, die mit den Namen B. anaérobies tryptobutyriques bezeichnet auf ihr Verhalten auf Maltose, Galaktose, Laktose, Saccharose, Inositc, Glynerin, Dextrin, Amidon, Manit-Dulcite, Inulin, Erythrit, Amygadalin geprüft.

Tissier glaubt, daß die von Achalme aus seinen Untersuchungen gewonnenen Resultate, wenigstens was den B. putrificus anbelangt, nicht zutreffend sind, da Achalme nicht mit einer Reinkultur gearbeitet haben soll.

Nach Tissier soll also der B. putrificus kein Kohlehydratvergärer sein, währenddem nach Achalme derselbe Maltose, Gluktose und Galaktose anzugreifen im stande ist.

Die neuerlichen Untersuchungen von Schattenfroh und Grassberger reihen ebenfalls den B. putrificus den Kohlehydratvergärern an.

Kommen wir nun auf den Reifungsprozeß der Käse zurück.

Mittels des in einer anderen Mitteilung angegebenen Anreicherungsverfahrens ist es gelungen, regelmäßig in Hartkäsen und insbesondere in Emmenthalerkäse fäulniserregende Anaëroben nachzuweisen.

Wir haben in unseren späteren Untersuchungen diese Methode nur insofern modifiziert, als wir anstatt Buchnersche Röhren die Gruberschen angewendet haben. Die Technik für diese Untersuchungen ist bereits angegeben worden.

Die Züchtung der in Frage stehenden Bakterien gelang uns ebenfalls sehr leicht durch Anwendung von $^1/_2$-proz. Milchsäurebouillon. Fein zerriebener Käse wurde in diesen sauern Nährboden aufgeschwemmt. Die Herstellung der Anaërobiose erfolgte, wie gesagt, in den Gruberschen Röhrchen, die 10—14 Tage auf 37° gelassen wurden. Aus diesen Röhrchen wurde dann in alkalische Bouillon reichlich überimpft, in der es zu mehr oder weniger üppiger Entwickelung der genannten Anaëroben kam.

Da allen diesen Bakterien die gemeinsame Eigenschaft zukommt, unter Bildung eines trypsinähnlichen Fermentes die Eiweißkörper zu zersetzen und unter gewissen Bedingungen Buttersäure zu bilden, so hätten wir dieselben mit den von Achalme vorgeschlagenen Namen Bac. anaérobies tryptobutyriques bezeichnen können. Wir haben aus Bequemlichkeitsrücksichten die Klassifikation von Schattenfroh und Grassberger vorgezogen, da dieselbe auch den nicht verflüssigenden, in Käse stets anwesenden Gruberschen Buttersäurebacillus in sich schließt.

Ueber die Bedeutung dieser Bakterien für den Reifungsprozeß der Käse kann man nach unserem Dafürhalten keinen Zweifel mehr haben. Wenn diese Fäulniserreger in dem Käse keine Fäulnis hervorrufen, so rührt das wohl in den ersten Wochen vom Säuregrade her. Während dieser Zeit sind jedoch genannte Bakterien im stande, Veränderungen des Parakaseins zu verursachen.

Nimmt die Säure im Käse allmählich ab (indem dieselbe durch Nachgärungen zersetzt wird, durch das Parakasein und durch die Phosphate gebunden wird u. s. w.) und ist der Neutralisations- bezw.

Alkalisationspunkt einmal erreicht, dann wären die Bedingungen für das Eintreten der Fäulnis einmal gegeben. Nun macht aber eine immer größer werdende Trockenheit des Substrates dieselbe unmöglich.

Eine weitere Aufgabe erfüllen diese Anaëroben, weil die meisten von ihnen auch Kohlehydrate zu vergären im stande sind.

Eine Anzahl von Gärungen, welche diese Bakterien bewirken (wie z. B. die Glyceringärung u. s. w.) spielen bei der Geschmacks- und Geruchsbildung in den reifenden Käsen ganz entschieden eine wichtige Rolle. Hierüber müssen natürlich genaue chemische Untersuchungen unsere Kenntnisse erweitern und präzisieren. Ferner möchten wir auf die von Schattenfroh gemachte für unsere Frage sehr wichtige Beobachtung hinweisen. Dieser Autor hat gefunden, daß gelegentlich Vertreter der Buttersäurebacillengruppe die Milchsäure und zwar sowohl die präformierte, den Kulturen in Form von milchsaurem Kalk zugesetzte, als auch die aus dem Zucker entstandene, vergären.

Die Produkte, zu welchen die Milchsäure vergoren wird, sind, außer den Gasen, Buttersäure und Propionsäure.

In der Gärtätigkeit werden diese „Bac. anaérobies tryptobutyriques“ auch von anderen Anaëroben, welche kein eiweißspaltendes Vermögen besitzen, unterstützt. Darunter befindet sich auch der unbewegliche Buttersäurebacillus (Grubersche Amylobakter, Granulobakter). Schattenfroh und Grassberger möchten diesem Mikroorganismus jede Bedutung bei der Käsereifung absprechen. Beweise für diese Anschauungsweise sind bis jetzt keine gebracht worden.

Zum Schlusse möchten wir noch erwähnen, daß die chemischen Untersuchungen allein nicht ohne weiteres die größere oder geringere Beteiligung dieser oder jener Bacillenart an einem Gärungsprozeß, bei welchem viele Bakterienarten tätig sind, ergeben können.

Dies sei hier besonders betont, da Orla Jensen, gestützt auf die Ergebnisse seiner chemischen Untersuchungen über die flüchtigen Anteile der Reifungsprodukte bei Emmenthalerkäse, die Bedeutung der Buttersäurebakterien für die Reifung des genannten Käses ausgeschlossen hat.

Ganz abgesehen davon, daß die Biologie dieser Bakteriengruppe noch nicht erschöpft ist, hätte der Umstand, daß diese Bakterien unter gewissen Bedingungen keine Buttersäure, sondern viele andere Produkte bilden, Orla Jensen von seinem Schlusse fernhalten sollen.

Literatur.

Achalme, Annales de l'Institut Pasteur. Année XVI. 1902.
Auerbach, Archiv für Hygiene. Bd. XXXI. 1897.
Bienstock, ebendaselbst. Bd. XXXVI. 1899 und Bd. XXXIX. 1901.
Blumenthal, Virchows Archiv. 1896.
Conradi, H., Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 5.
Epstein, S., Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. 1900.
Freudenreich, Centralbl. für Bakt. Abt. II. 1899.
Hamilton, G., Milchztg. No. 29; 1900.
Hirschler, Zeitschr. für physiol. Chemie. 1888.
Jensen, O., Mündl. Mitt. von Herrn Dr. Burri, Zürich.
Kabrhel, zitiert nach Epstein.

Klein und Kirsten, Milchztg. 1901. No. 29; No. 30. 1900.
Schattenfroh und Grassberger, Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. 1900; Bd. XLVIII. 1903.
Sidler, F., ebenda. Bd. XLVII. 1903.
Silberschmidt, W., Deutsche med. Wochenschr. 1903.
Tissier et Marbelly, Annales de l'Institut Pasteur. Année. XVI. 1902.
Tissier et Gasching, Annales de l'Institut Pasteur. Année, XVII. 1903.

Ueber die Blähung im Edamer Käse.

[Mitteilungen aus dem bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Tafel.

Unter den Fehlern, mit welchen der holländische Käsebereiter zu kämpfen hat, ist die Blähung (holl: het rijzen oder heft) wohl der am meisten gefürchtete. Die Erscheinung besteht darin, daß das Volumen des Käses mehr oder weniger bedeutend zunimmt und die Käsemasse ein schwammartiges Ansehen bekommt, infolge der im Teige gebildeten Gasblasen. Die Intensität, mit welcher diese Erscheinung auftritt, ist verschieden; bisweilen äußert sie sich so heftig, daß die Aufblähung der Käsemasse schon unter der Presse anfängt; in anderen Fällen dagegen findet so gut wie keine Volumenänderung statt und auch die Gasblasen im Inneren sind nur in geringer Zahl vorhanden. Im letzteren Falle spricht man von „losse“ (lockerem) Käse.

Dieser Käsefehler, welcher auch in anderen Käsesorten auftritt, ist bereits von verschiedenen Forschern studiert. v. Freudenreich, Adametz, Weigmann und Goethart[1]) fanden, daß Bakterien die Ursache davon seien. Die von ihnen isolierten Bakterien wurden in Milch gebracht und die daraus bereiteten Käse zeigten alle den Fehler. v. Freudenreich aber war der erste, der nachwies, daß Bakterien, welche Euterentzündungen hervorrufen, auch im stande sind, die Blähung zu verursachen, und zeigte so die große Gefahr, welche Milch von euterkranken Kühen für die Käsebereitung bildet. Aber auch in Kuhfaeces gibt es regelmäßig Bakterien, unter anderen das Coli commune, welche Veranlassung geben können zur Blähung, weshalb man dafür Sorge tragen soll, daß keine Faecespartikelchen in die Milch übergehen. Weil aber die Reinlichkeit in dieser Hinsicht viel zu wünschen übrig läßt, und es wohl kaum Milch geben wird, welche nicht mit kleinen Mengen von Kuhfaeces verunreinigt ist, so würde man hieraus leicht die Schlußfolgerung ziehen können, daß alle Käse Blähung zeigen müßten. Diese Schlußfolgerung würde richtig sein, wenn nicht durch äußere Einflüsse, wie die Temperatur und namentlich durch die Milchsäurebakterien, die die Blähung bildenden Bakterien im Zaum gehalten würden. Es ist ja bekannt, daß die Blähung hauptsächlich in der warmen Jahreszeit auftritt, und daß bei schneller Temperaturerniedrigung der Luft der Fehler plötzlich aufhören kann. Daß die Temperatur

---

1) Nicht publiziert.

tatsächlich großen Einfluß ausübt, geht aus folgendem deutlich hervor: Wenn man zwei Reagenzröhrchen mit Molkengelatine füllt und beide im geschmolzenen Zustande der Gelatine mit einem Blähungserreger impft, so wird das eine, bei 22° C im Brutofen gestellt, schon nach 24 Stunden stark Gasentwickelung zeigen, während man in dem zweiten, das bei Zimmertemperatur (15° C) gehalten ist, nicht die geringste Gasentwickelung entdecken kann.

Was den Einfluß der Milchsäurebakterien anbelangt, so wird dieser am deutlichsten durch den Gebrauch illustriert, den der holländische Landwirt von dem langen Molken („lange wei") zur Prophylaxe dieser Fehler macht. Die langen Molken enthalten ein Gemisch von mehr oder weniger starken Milchsäurebakterien und einem Streptococcus, welcher im stande ist, in kurzer Zeit eine ziemlich große Menge von Milchsäure zu produzieren. Daß Milchsäure als solche auf die Blähung Einfluß übt, wird nachher gezeigt werden.

Der von uns isolierte Blähungserreger stammte aus einem Käsereibetrieb, wo dieser Fehler schon seit längerer Zeit im hohen Grade auftrat. Es ist ein kurzes, dickes Stäbchen, das auf Molkengelatine sehr üppig wächst; es entstehen in der Kolonie sogar schon Gasblasen. Weiter entwickelt er sich auf Löfflerscher Gelatine mit Milchzuckerzusatz; auch in Molken und Wasser mit Pepton, Milchzucker und Nährsalzen gedeiht er vorzüglich. Bei unseren Untersuchungen gebrauchten wir aber bloß Molken und Molkengelatine, weil diese Substrate am meisten mit dem Nährboden im Käse übereinstimmen. Käse im Anfangsstadium der Reifung muß ja als eine Eiweißmasse betrachtet werden, in welche Molken aufgesogen ist.

Die Gasentwickelung.

Zur Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Gase wurde in folgender Weise vorgegangen: Ein Fläschchen, ganz aufgefüllt mit sterilen Molken, wurde durch einen Kork abgeschlossen, durch welchen der eine Schenkel eines S-förmig gebogenen Rohres gesteckt war. Das andere Ende dieses Röhrchens diente zur Abfuhr des Gases, welches in bekannter Weise über Quecksilber aufgefangen wurde. Beim Anfang des Versuches wurde auch das Röhrchen beim Aufsetzen des Korkes mit Molken gefüllt und das Ganze in einen Thermostaten bei 22° C gestellt. Jedesmal nach einer ausreichenden Gasentwickelung wurde dasselbe in eine Hempelsche Gasburette übergeführt und nach bekannter Weise untersucht. Das Gas zeigte sich als ein Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff.

Zur Feststellung des Verhältnisses zwischen der Menge des verbrauchten Milchzuckers und dem Gewicht der gebildeten Gase wurde am 27. Oktober eine Flasche mit 160 ccm steriler Molken mit dem Blähungserreger geimpft und bei 22° C gehalten. Schon am 29. Oktober hatte sich eine genügende Menge von Gas zur Analyse gebildet. Die untenstehende Tabelle gibt eine Uebersicht über die Menge und Zusammensetzung des Gases, welches successive aufgefangen wurde:

Datum	Aufgefangen	Kohlensäure	Wasserstoff	Verhältnis Kohlensäure : Wasserstoff
29. Oktober	52,3	37,4	14,9	2,51 : 1
30. „	45,6	34,9	10,7	3,26 : 1
31. „	30,8	22,3	8,5	2,62 : 1
1. November	39,2	32,0	7,2	4,45 : 1
2. „	45,9	35,7	10,2	3,5 : 1
3. „	27,7	21,5	6,2	3,47 : 1
5. „	52,5	40,9	11,6	3,53 : 1
7. „	45,1	35,3	9,8	3,6 : 1
9. „	52,8	40,7	12,1	3,37 : 1
12. „	47,0	35,6	11,4	3,12 : 1
21. „	41,0	30,8	10,2	3,02 : 1

Am 23. November, also 2 Tage nach der letzten Untersuchung, waren bloß 4 ccm Gas entwickelt, weshalb wir die Gärung als beendet betrachteten. Aus der Tabelle geht hervor, daß das Verhältnis zwischen Kohlensäure und Wasserstoff nicht konstant ist, weil die Menge der Kohlensäure das 2,51 bis 4,45-fache des Wasserstoffes beträgt. Die ganze Menge des produzierten Gases betrug, unter Berücksichtigung der Temperatur und des Thermometerstandes, bei 0° und 760 mm 351,8 ccm Kohlensäure und 107,8 ccm Wasserstoff. Wenn man die 105,8 ccm Kohlensäure hinzufügt, welche in den Molken zurückgeblieben waren, so findet man eine totale Gasproduktion von 456,8 ccm Kohlensäure und 107,6 ccm Wasserstoff oder in Gewichten 0,903 g Kohlensäure und 0,009 g Wasserstoff.

In den sterilisierten Molken waren ursprünglich 4,88 Proz. Milchzucker, während am Ende des Versuches 3,32 Proz. übrig geblieben waren. Pro 100 ccm Molken waren also verschwunden 1,56 g Milchzucker oder, da das Fläschchen 160 ccm Molken enthielt, fehlten also im Ganzen $1{,}56 \times 1{,}6 = 2{,}5$ g. An diesem Verlust hat die Gasentwickelung nur für 0,912 g Schuld, so daß noch 1,6 g in anderer Weise umgesetzt worden ist. Die Säurebildung ist wohl eine dieser Ursachen.

Einfluß der Milchsäure auf die Bakterien.

Bei dieser Untersuchung wurde Milchsäure benutzt, die eigen hergestellt war mit einer Reinkultur der langen Molken-Bakterien (*Streptococcus hollandicus*). Ein Kolben, gefüllt mit 4 Liter sterilisierter Molken und ausreichendem Kreidezusatz zur Bindung der gebildeten Säure wurde mit der langen Molken-Bakterie geimpft. Infolgedessen blieb die Flüssigkeit frei von einem Uebermaß freier Milchsäure und die lange Molken-Bakterie hatte Gelegenheit, allen Milchzucker vollständig zu zerlegen. Nachdem dies stattgefunden hatte, wurde die Flüssigkeit eingedampft und filtriert. Der auskristallisierte Milchsäurekalk wurde abermals in Wasser gelöst und der Kalk mit Oxalsäure ausgefällt. Die Masse wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Auf diese Weise erhielten wir 75 ccm einer Flüssigkeit, welche 74 Proz. Milchsäure enthielt, gelblich gefärbt und rechtsdrehend war.

Verschiedene Fläschchen frischer Molken erhielten jetzt so viel

von dieser Milchsäure, daß ihr Gehalt an derselben respektive war: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 Proz. Die also präparierten Molken wurden sterilisiert und mit dem Blähungserreger geimpft. Es zeigte sich, daß nach einigen Tagen Stehens bei 22° C nur Wachstum in den Fläschchen mit 0,1 und 0,2 Proz. Milchsäure auftrat. Erst nach langem Stehen war auch in den Molken mit 0,3 Proz. Milchsäure Wachstum zu verzeichnen, während in derselben mit 0,4 Proz. Milchsäure überhaupt keine Bakterienentwickelung zu bemerken war. Ein Gehalt von 0,4 Proz. Milchsäure ist also für den Blähungserreger tödlich.

Verhältnis der Bakterien gegenüber salpetersaurem Kalium.

Ein bei den holländischen Käsern bekanntes Mittel gegen die Blähung besteht in dem Zusatz von salpetersaurem Kalium zur Milch. Der Einfluß, welchen das salpetersaure Kalium auf die Gärung ausübt, ist leicht nachzuweisen durch die folgenden Versuche: Wenn ein Reagenzrohr mit Molkengelatine mit dem Blähungserreger geimpft und bei etwa 22° C hingestellt wird, so entsteht schon nach etwa 24 Stunden eine starke Gasentwickelung. Die Gasblasen bleiben in der Gelatine eingeschlossen und die Gärung wird nach einiger Zeit so stark, daß die Gelatine zerrissen wird. Füllt man dagegen das Rohr mit 0,1 Proz. Kalium nitrathaltiger Molkengelatine und impft mit derselben Bakterie, so geschieht etwas ganz anderes. Die Bakterien wachsen zwar und bilden sogar große Kolonieen, aber von Gasbildung ist hier gar nicht die Rede. Wenn wenig von dieser Kultur einem Gemenge von Kaliumjodidlösung, Kleister und Schwefelsäure zugesetzt wird, so entsteht eine intensive Blaufärbung. Dies zeigt die Gegenwart von Kaliumnitrit, das Nitrat ist also reduziert worden. Nach einiger Zeit tritt aber auch in diesem Rohre Gasbildung auf, und bei der Untersuchung zeigte es sich, daß auch kein Kaliumnitrit mehr da ist. Die Reduktion endet also nicht bei dem Nitrit, sondern auch dieses wird zerlegt und am Ende bleibt nur Kalium und Stickstoff übrig. Das Kalium bindet sich mit den von der Bakterie gebildeten Säuren, während der Stickstoff wahrscheinlich als solcher entweicht. Die Zerlegung geschieht also derartig, daß nur der Sauerstoff des Nitrats absorbiert wird. Analog damit werden auch andere Salze, welche leicht Sauerstoff abspalten, diese Erscheinung zu stande bringen. Daß dies tatsächlich der Fall ist, zeigt eine Wiederholung des Versuches mit Natriumnitrat oder Kaliumchlorat. Natriumnitrat gibt durchaus dieselben Resultate; mit Kaliumchlorat ist dies nicht vollständig der Fall. Zwar ist auch hier die Gasbildung unterdrückt und sieht man Kolonieen entstehen, aber es dauert viel länger, bevor Gasentwickelung in der Gelatine auftritt. Dies muß wahrscheinlich Stoffen zugeschrieben werden, wie unterchlorigsaures Kalium, welche vielleicht bei der Reduktion entstehen, und bakterizide Eigenschaften besitzen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß dieser Blähungserreger für sein Wachstum Sauerstoff bedürftig ist. Fehlt es ihm an Luftsauerstoff, so kann er auch gebundenen Sauerstoff ausnützen. In

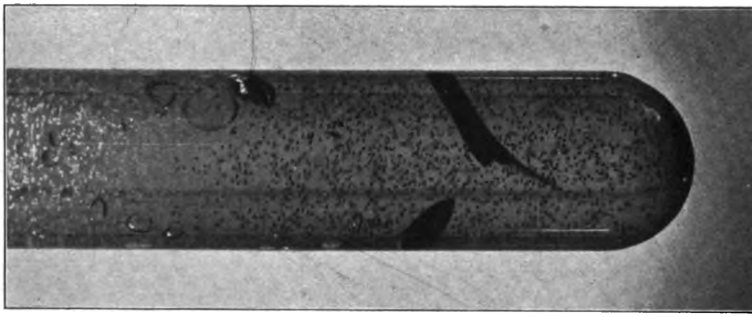


Fig. 3.

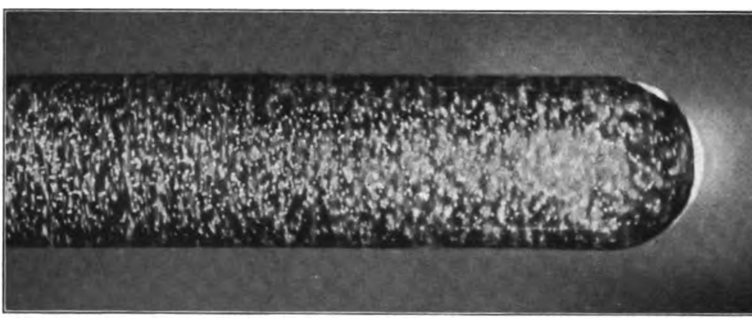


Fig. 2.

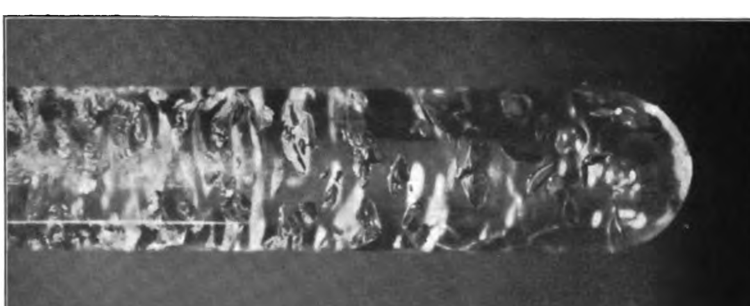


Fig. 1.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

dem frischen Käse z. B. ist der freie Sauerstoff bald erschöpft, aber dann findet er in dem Milchzucker eine Substanz, der er Sauerstoff entziehen kann. Der Milchzucker wird angegriffen und von den Zersetzungsprodukten wird nur der Sauerstoff verbraucht, während die unbrauchbaren Teile, Wasserstoff und Kohlensäure, Veranlassung zur Blähung geben. Findet die Bakterie aber eine Substanz mit bedeutend lockerer Bindung des Sauerstoffes, wie Milchzucker, so gibt er derselben offenbar den Vorzug. Dies ist die Ursache, weshalb bei Anwesenheit des Salpeters zuerst der Sauerstoff entzogen wird. Reicht der Salpetervorrat nicht aus, so wird der Milchzucker zum gleichen Zwecke angegriffen. Aus diesem Grunde entstehen auch in Gelatineröhren mit Salpeter nach längerem Stehen Gasblasen. In dem Käse würde bei langer Dauer ein derartiger Zustand erzeugt werden, wenn dies nicht auf zweierlei Weise verhindert würde: Erstens ist schon durch die Milchsäurefermente der Milchzucker bald in Milchsäure umgesetzt, so daß diese Sauerstoffquelle für den Blähungserreger verschwindet, und zweitens wirkt, wie schon gesagt, die Milchsäure im hohen Grade hemmend auf sein Wachstum.

Die Hinzufügung salpetersauren Kaliums verschafft dem Blähungserreger also den Sauerstoff in leichter, assimilierbarer Form, wie der Sauerstoff in Milchzucker, und die Milchsäurefermente werden in die Lage gesetzt, weitere Gasbildung zu verhüten.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Reagenzrohr mit Molkengelatine, geimpft mit dem Blähungserreger nach 24 Stunden bei 22° C. Die Gelatine war stark geimpft, daher fehlten große Kolonieen; kleine Kolonieen sieht man immerhin in den Gelatineteilen ohne Gasblasen.

Fig. 2. Reagenzrohr mit Molkengelatine und 0,084 Proz. Natriumnitrat, geimpft mit dem Blähungserreger nach 2 × 24 Stunden bei 22° C. Die Kolonieen sind gut entwickelt, aber Gasbildung ist vollständig zurückgeblieben.

Fig. 3. Dasselbe Rohr wie Fig. 2 nach 8 Tagen bei 22° C. In demselben sind an der Unterseite zwei große flache Gasblasen ersichtlich; übrigens sind noch verschiedene kleinere Gasblasen da. Die Gasbildung fing nach 5 Tagen an.

Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten.

[Vorläufige Mitteilungen aus dem gärungsphysiologischen Laboratorium in Zürich.]

Von **Leopold Nathan.**

Gelegentlich meiner Arbeiten über Wein-, Fruchtwein- und Bierwürzegärungen, sowie über Bereitung alkoholfreier Fruchtsäfte waren mir des öfteren Verzögerungen der Gärung, Veränderungen im Aussehen der Hefe und der gärenden Flüssigkeiten, bezw. Farbänderungen und Trübungen der letzteren aufgefallen, die ich nach reiflicher Ueberlegung in erster Linie dem Einfluß der Metalle der verwendeten Gefäße auf die gärenden Flüssigkeiten zuschreiben zu müssen glaubte. Der Feststellung dieser Erscheinung galten die daraufhin unternommenen Versuche, deren praktische Ergebnisse in der prinzipiellen Ausschaltung der Metalle in meinen

Bier- und Weinbereitungsverfahren (D. R. P. 6b 135539 und 125984) vorliegen. Anderweitige wichtige Arbeiten verzögerten die Veröffentlichung dieser seit Januar 1902 laufenden Versuchsreihen, die in kurzer Zeit zu einem gewissen Abschluß gelangen und eine ausführliche Darstellung an gleicher Stelle erfahren sollen.

Die Gärungen wurden teils mit Apfelsaft, teils mit gehopfter Bierwürze durchgeführt; die als dünne Bleche von möglichster Reinheit von verschiedenen Firmen bezogenen Metalle waren zu kleinen Cylindern geformt. Auch einige Nichtmetalle wurden in die Untersuchungen einbezogen.

Reihe I. Versuchsflüssigkeit Apfelsaft, Vergärung bei Tageslicht. Reihe II, III und III a. Versuchsflüssigkeit Bierwürze, Vergärung bei III im Dunkeln.

Die Apfelmoste zeigten durchweg größere Widerstandskraft gegen die Metalle, als die Bierwürzen; obwohl die ersteren wesentlich mehr Metall gelöst hatten — die Mengen schwanken zwischen 0—3,369 g für 800 g Flüssigkeit und 480 qcm wirksamer Kontaktfläche — blieben sie alle während und nach der Gärung glanzhell; dagegen zeigten die Bierwürzen bei Eisen sogar schon nach der Sterilisation einen gräulichen Schimmer, der sich während der Gärung zu einer tintenartigen Farbe und schwarzem Niederschlag verdichtete. Auch zahlreiche andere Metalle erzeugten in der Würze mehr oder weniger intensive Färbungen und Ausscheidungen, trotzdem die Menge der gelösten Metalle nur 0—1,09 g betrug.

Es sei noch bemerkt, daß man aus den gelösten Mengen nicht direkt auf die Verzögerung der Gärung und die Giftwirkung schließen darf, sondern daß lediglich die spezifische Wirkung des einzelnen Metalles maßgebend ist. Als besonders gärungshemmend erwiesen sich: Neusilber, Kupfer, Zink, Messing, Bronze und schwarzes Eisen; zu den mittelstarken Giften gehören Zinn und Blei, während Celluloid, poliertes Eisen, Glas, Hartgummi, Silber, Nickel, Gold, poliertes Zinn, Weißblech, Aluminium, Nickel und einige Legierungen sich teilweise indifferent, teilweise schwach giftig verhielten. Die Beschaffenheit der Metalloberfläche ist also auch ein sehr einflußreicher Faktor.

Genaue Zahlen und graphische Tabellen sollen diese Verhältnisse des näheren erläutern. Es war mir nur darum zu tun, vorstehende Tatsachen auf diesem gegenwärtig viel bearbeiteten Gebiet vorläufig festzustellen. Fortsetzung der Originalarbeit ist vorgesehen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Kienitz-Gerloff, Bakterien und Hefen, insbesondere in ihren Beziehungen zur Haus- und Landwirtschaft, zu den Gewerben, sowie zur Gesundheitspflege, nach dem gegenwärtigen Stande der Wissenschaft gemeinverständlich dargestellt. Berlin (Salle) 1904. V, 100 p. 65 Fig. 1,50 M.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bouillhac et **Giustiniani**, Sur des cultures de divers plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 5. p. 293—296.)

Briot, A., Nouvelle espèce de Trématode, Microcotyle draconis n. sp. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 3. p. 126—127.)

Caullery, Maurice et **Mesnil, Félix**, Sur un organisme nouveau (Pelmatosphaera polycirri n. g. n. sp.) parasite d'une annélide et voisin des orthonectides. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 3. p. 92—95. 4 Fig.)

Chuard, E., Sur un cas particulier de fermentation d'un moût. (Chronique agricole de Vaud. Année XVII. 1904. N. 2. p. 44—50.)

Giles, G. M., Cold weather mosquito notes from the united provinces North-West-India. [Forts.] (Journ. of trop. med. Vol. VII. 1904. N. 2. p. 22—23. 2 Fig.)

Gros, H., Sur un Acarien parasite des Anopheles. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 2. p. 56—57.)

Hefferan, Mary, A comparative and experimental study of bacilli producing sed pigment. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 14/15. p. 456—475.)

Laveran, A. et **Mesnil, F.**, Nouvelles observations sur Piroplasma Donovani Lav. et Mesn. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 4. p. 187—189.)

Maire, R., Remarques sur la cytologie de quelques ascomycètes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 2. p. 86—87.)

Malenković, Basilius, Mit der Sporenkeimung zusammenhängende Versuche mit Hausschwamm. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 2. p. 100—109. Fig.)

Meyer, Werner, Ueber Trichocephalen im Dickdarm des Schweines. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 5. p. 156—157. 1 Fig.)

Mola, Pasquale, Su di un cestode del Carcharodon rondeletii M. Hle. (Arch. Zool. Napoli Vol. I. 1903. Fasc. 3/4. p. 345—366. 2 Taf.)

Molisch, Hans, Ueber Kohlensäure-Assimilationsversuche mittels der Leuchtbakterienmethode. (Bot.-Ztg. Abt. I. Orig. Jg. LXII. 1904. Heft 1. p. 1—10.)

Prescott, S. C. and **Baker, S. K.**, On some cultural relations and antagonisms of bacillus coli and Houstons sewage streptococci; with a method for the detection and separation of these microorganisms in polluted waters. (Journ. of infect. dis. Chicago. Vol. I. 1904. N. 1. p. 193—210.)

Sabrazès, J. et **Muratet, L.**, Trypanosome de l'anguille. — Processus de division. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 2. p. 66—68.)

Sergent, Edmond et **Étienne**, Note préliminaire sur une Trypanosomiasis des Dromadaires d'Algérie. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 3. p. 120—122.)

— —, Note our les acariens parasites des Anopheles. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 3. p. 100—102.)

— —, Sur un trypanosome nouveau, parasite de la grenouille verte. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 3. p. 123—124. 1 Fig.)

Süchting, H., Kritische Studien über die Knöllchenbakterien. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 14/15. p. 417—441.)

Stoklasa, Julius, Die glykolytischen Enzyme im tierischen Gewebe. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXX. 1904. N. 6. p. 198—200.)

Theobald, Fred. V., A new culicid genus from Uganda. (Journ. of trop. med. Vol. VII. 1904. N. 2. p. 17—18. 1 Fig.)

Zschocke, Zur Finnenfrage. (Dtsche tierärztl. Wchnschr. Jg. XII. 1904. N. 5 p. 41—42.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Cristiani, H. et **de Michelis, G.**, De l'influence du „pétrolage" et „goudronnage" des routes sur les poussières et les germes vivants de l'atmosphère. (Rev. méd. de Suisse Romand. Année XXIV. 1904. N. 1. p. 45—55.)

Fleisch.

Hartenstein, Ueber Fleischvergiftungen. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. V. 1904. N. 3. p. 37—39.)

Meyer, M., Anleitung zur Ausübung der Fleischbeschau. Im Auftrag der Sanitätsdirektion des Kantons Aargau nach den Bestimmungen der kanton. Verordn. u.

Instrukt. üb. Fleischbeschau u. Fleischverkauf v. 30. u. 31. III. 1904. bearb. Aarau (Wirz) 1903. IV, 55 p. 8°. 1 M.

Prettner, M., Konservierung der Selchwaren und Schinken mittels einer neuen Einkapselungsmethode. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 5. p. 154—155.)

Milch, Molkerei.

Die Gärung und Reifung in Emmenthaler Käsen. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVIII. 1904. N. 4. p. 72—73.)

Ertel, Franz, Beobachtungen über die Rippersche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Tieren. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 6. p. 81—83.)

Heyman, Bol., Eine neue Methode der quantitativen Bestimmung des Milchzuckers in der Milch. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 3. p. 105—108.)

Käsewurm, Die Untersuchungen von Mohler (U. S. Depart. of agric. Washington 1903), betr. die Frage der Infektiosität der Milch lediglich auf Tuberkulin reagierender Kühe. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 5. p. 144—154. 2 Fig.)

Raudnitz, R. W., Sammelreferat über die Arbeiten aus der Milchchemie im Jahre 1903. 1. Semester nebst eigenen kleinen Beiträgen. (Aus Monatsschr. f. Kinderheilk.) Wien (Deuticke) 1903. 22 p. 8°. 1 M.

Rodella, Antonio, Einiges über die Biologie der Käseanaëroben. III. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 14/15. p. 452—456.)

Wein, Weinbereitung.

Desmoulins, A. M., Clarification des vins blancs altérés. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 11. p. 41—42.)

Guénaux, G., Les sulfates dans les vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 6. p. 22.)

Laborde, J., Sur le ferment de la maladie des vins poussés ou tournés. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 4. p. 228—231.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Sewerin, S. A., Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 12/13. p. 389—396.)

Winslow, C. E. A. and **Belcher, D. M.**, Changes in the bacterial flora of sewage during storage. (Journ. of infect. dis. Chicago. Vol. I. 1904. N. 1. p. 170—192.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Baer, W., Beobachtungen über Lyda hypotrophica Htg., Nematus abietinus Chr. and Grapholitha tedella Cl. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. LIII. 1903. 2. Hälfte. p. 171—208. 3 Fig.)

Cantin, G., Sur la destruction de l'oeuf d'hiver du Phylloxera par le lysol. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 3. p. 178—180.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Blähung im Edamer Käse, p. 89.

Gorini, C., Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse, p. 78.

Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen, p. 43.

Nathan, Leopold, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeit, p. 93.

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien, p. 1.

Omelianski, W., Die histologischen und chemischen Veränderungen der Leinstengel unter Einwirkung der Mikroben der Pektin- und Cellulosegärung, p. 33.

Rodella, A., Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Buttersäurebacillen für den Reifungsprozeß der Hartkäse, p. 82.

Neue Litteratur, p. 94.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XII. Band. Jena, den 28. Mai 1904. **No. 4/5.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Zusammenfassende Uebersichten.

Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage.

Kritisches Referat.

Von Prof. Dr. **W. Winkler**, Wien.

A. Hartkäse.

Der Käsereifungsprozeß ist noch immer ein vielfach unaufgeklärtes, strittiges Gebiet. Obwohl gerade über diesen Gegenstand in den letzten Jahren eine größere Zahl wertvoller Arbeiten erschienen ist und lebhafte Kontroversen geführt wurden, gehen die Ansichten gegenwärtig doch noch weit auseinander. Es muß deshalb angezeigt erscheinen, die neueren Arbeiten hierüber kritisch zu vergleichen und die positiven Resultate daraus hervorzusuchen.

Dies ist um so notwendiger, als sich hie und da einseitige und unklare Anschauungen festzusetzen beginnen. Bezeichnend für die ganze Sachlage ist die Darstellung Prof. Alfr. Fischers in der im vorigen Jahre erschienenen Auflage seines trefflichen Buches „Vorlesungen über Bakterien“, die auch in das bekannte Fachblatt „Milch-Zeitung“ Leipzig (No. 26 u. 27. 1903) übergegangen ist. Prof. Fischer schreibt: „Soviel ist anerkannt, daß das Kaseïn peptonisiert wird und daß hierin die Käsefabrikation eigentlich beruht, auch die oben genannten Amidverbindungen und Ammoniak gehören ja zu den tryptischen Verdauungsprodukten. Wer verdaut, das ist die schwierige Frage. Begreiflicherweise hat man zunächst an die Käsebakterien gedacht. Nachdem festgestellt war, daß obligat anaërobe Bakterien im Emmentaler zur Reifung nicht beitragen, blieben nur noch 2 Gruppen übrig, einerseits die gewöhnlichen Milchsäurebakterien und zweitens die von Duclaux als Tyrothrix zusammengefaßten mit stark peptonisierenden Eigenschaften.

Als Hauptvertreter der Ansicht, daß die Milchsäurebakterien auch die Käsereife des Kaseïns herbeiführen, ist von Freudenreich zu nennen. Es gelang ihm, aus pasteurisierter Milch unter Zusatz von reinen Milchsäurebakterien einen leidlichen Emmentaler herzustellen, während anaërobe Bakterien allein oder Tyrothrix allein nicht zum Ziele führten. Die Milchsäurebakterien sollen ein proteolytisches Enzym abscheiden, das aber nur in neutralem Substrat wirkt, dann aber trypsinartig das Kaseïn bis zu Amidoverbindungen und Ammoniak herab abbaut. Ohne Bedenken kann man diese Anschauung deshalb nicht annehmen, weil ja tatsächlich der Käse stets Säure enthält, und wenn auch ein guter Teil davon schon nach den ersten Reifungstagen durch die Milchsäurebakterien selbst und durch andere aufgezehrt wird, so fällt die Schwierigkeit doch nicht ganz hinweg; 14 Tage alter Emmentaler enthielt noch 0,32 Proz. freie Milchsäure. Auch konnte von Freudenreich selbst feststellen, daß aus gekochter Milch mit Milchsäurebakterien hergestellter Emmentaler nicht reifte.

Ebenso schmackhaften Emmentaler, wie von Freudenreich mit Milchsäurebakterien heranreifte, stellte Adametz ohne sie, aber mit einer Tyrothrix-Art, dem Bac. nobilis her, demselben, der in Tyrogen enthalten ist. Er allein soll Aroma und Reife des Emmentalers gewährleisten. — Weniger schroff ist der Standpunkt anderer Käseforscher, von denen Weigmann seine Ansicht so formuliert, daß die Käsereifung ein komplizierter, mehreren Bakterien zuzuschreibender Prozeß sei: die Milchsäurebakterien sind nicht notwendig, aber unvermeidlich und erscheinen deshalb auch notwenig, obgleich sie wirklich nur eine Vorstufe der Reifung charakterisieren. Ihnen müssen säurezehrende oder alkalibildende Zwischenbakterien folgen und den Boden für die echten Käsereifer vorbereiten, die zum Teil noch unbekannt sind, zum Teil zu Paraplectrum foetidum gehören. Das letztere ist ein anaërobes, gut sporenbildendes Stäbchen, das starken Käsegeruch erzeugt.

In diesen Wirrwarr der zum Teil mit bäuerlicher Grobheit

verfochtenen Ansichten, schlug wie eine Bombe die Behauptung von Babcock und Russel ein: nicht Bakterien liefern die Kasein spaltenden Enzyme, sondern in der Milch selbst steckt eines, die Galaktase, ein zweites pepsinartiges enthält das Lab. Die Galaktase wurde in jeder tierischen Milch nachgewiesen und gehört zu den Trypsinen etc. . . . . .

Die Zukunft wird darüber entscheiden, ob die von manchen heute noch angezweifelte Galaktase existiert, ob die Milchsäurebakterien überhaupt an der Reifung beteiligt sind oder ob sie nur durch die anfängliche Säuerung antiseptisch wirken und so der Galaktase und dem Labpepsin einen reinen Boden schaffen. Der Teleologe müßte die Entdeckung der Galaktase mit Freuden darüber begrüßen, daß die Natur, als sie die Milch mit Kasein überlud, auch zugleich das lösende, seine Verdauung fördernde Enzym hinzufügte. Der Bakteriologe überläßt ihm gern einen Anteil, vielleicht den Hauptanteil an der Käsereifung, die bereits so vielerlei bakteriologische Irrfahrten veranlaßt hat. Eine Aufgabe werden neben der Vergärung des Milchzuckers die zahllosen Mikroorganismen des Käses nach wie vor zu erfüllen haben: Die Aufzehrung der den Geschmack beeinträchtigenden tryptischen Spaltungsprodukte und ihre Ueberführung in geeignetere Form; die Selbstreinigung des Käses durch Bakterien."

Wie man sieht, neigt sich Prof. Fischer der Anschauung zu, daß die Galaktase die Hauptrolle bei der Käsereifung spiele. Die neueren Arbeiten Schweizer und holländischer Forscher haben jedoch dieser Annahme fast allen Boden entzogen. Bezüglich der zwei von Adametz und von Freudenreich vertretenen Ansichten ist ein genaueres Eingehen auf die Arbeiten und eine feinere Differenzierung notwendig und es wird sich dabei zeigen, daß zwischen den angegebenen Gegensätzen bereits eine gewisse Annäherung stattgefunden hat.

Hier kann zunächst nur auf die Reifung der Hartkäse im engeren Sinne eingegangen werden. Die — wenigstens in Bezug auf die Erreger — viel mannigfaltigere Reifung der Weichkäse verläuft vielleicht nicht nur graduell etwas verschieden. Außerdem ist es notwendig, nicht zu übersehen, daß die drei Haupttypen von Hartkäsen (Schweizer, Holländer und englisch-amerikanische Gruppe) unter verschiedenen Bedingungen reifen und dadurch auch das Ineinandergreifen und der Ablauf der bakteriologischen Prozesse abgeändert wird. Was also für den Cheddarkäse gilt, paßt nicht vollkommen genau für den Emmentaler und das für diesen Gefundene nicht ganz für den Holländerkäse.

In der Versuchsanstellung ist in neuerer Zeit ein ganz wesentlicher, einschneidender Fortschritt dadurch gemacht worden, daß man die Versuchskäse, mit und ohne Zusatz von Bakterienkulturen, aus möglichst aseptisch gewonnener Milch herstellte. Dadurch sind ganz wesentlich sicherere Grundlagen gewonnen worden. Bisher arbeitete man meist mit pasteurisierter und sterilisierter Milch. Nach der Ansicht von Boekhout und O. de Vries, von Freudenreich und O. Jensen ist aber aus stark er-

hitzter Milch niemals ein normaler Käse zu gewinnen, weil durch das Erhitzen das Eiweißmolekül eine zu tiefgreifende Aenderung erfährt. Außerdem ist nicht außer acht zu lassen, daß auch andere Bestandteile der Milch angegriffen und die Milchenzyme ausgeschaltet werden.

Trotzdem ist es Dir. Dr. Klein in Proskau gelungen, aus pasteurisierter und bis 100° C erhitzter Milch gute Tilsiter- und Backsteinkäse, sowie verwandte Käsesorten herzustellen. Die Versuche sind mit ebenso gutem Erfolge von Dir. du Roi in Prenzlau und an anderen Orten wiederholt worden. Das Verfahren knüpft an den 1896 von Dr. Hillmann gemachten Vorschlag an, die Gerinnbarkeit erhitzter Milch bei Labzusatz durch Zugabe von Calciumoxyd wieder herzustellen und ist folgendes: Die erhitzte Milch enthält einen Zusatz einer reinen 40-proz. Chlorcalciumlösung (100—125 ccm auf 100 l) und von feinzerriebener Masse eines viertelreifen Käses der betreffenden Sorte (etwa 250 g auf 100 l), event. 2,5—5 Proz. frischer Mager- oder Vollmilch oder mit Rahmsäuerungskulturen angesetzter pasteurisierter Magermilch, bei Herstellung von Sauermilchkäsen — nach Dr. Hamilton — eine Zugabe von Buttermilch aus gesäuertem Rahm. Zum Einlaben wird die Milch einige Grade höher vorgewärmt. Für das Gelingen der Käse ist es von Wichtigkeit, daß die Milch in einem Regenerativerhitzer allmählich angewärmt und nach dem Erhitzen möglichst rasch wieder abgekühlt wird. Eine Erhitzung über freiem Feuer soll für diese Zwecke nachteilig sein. Bei der Weiterbehandlung der Käse soll namentlich beim Salzen vorsichtig vorgegangen werden. Bei richtiger Arbeitsweise und nicht zu starker Verunreinigung der Milch waren Geschmack und Beschaffenheit der Käse gut und typisch. Die Ausbeute an Käse stellt sich um 10 bis 30 Proz. höher, und zwar ist auch die Käsetrockenmasse um durchschnittlich 10 Proz. erhöht, wohl infolge des Ueberganges des Milchalbumins in den Käse; die Reifezeit ist nicht verlängert, so daß sich also die Ausschaltung der Milchenzyme (Galaktase) nicht fühlbar macht.

Die Möglichkeit, bis 100° C erhitzte Milch ohne Verlust und ohne weitere Schwierigkeiten auf tadellose Käse verarbeiten zu können, ist für die Käsereipraxis von nicht zu unterschätzender Bedeutung; sie könnte in vielen Fällen dem Betriebe die erwünschte Sicherheit geben und in anderen, wo die Milch aus irgend einem Grunde (Seuchengefahr, Herstellung von Dauerbutter) erhitzt werden muß, recht vorteilhaft sein.

Bemerkenswert und interessant ist ein Versuch Dir. Dr. Tiemanns (Milch-Zeitung 1901, S. 195 und 386), bei dem es gelang, aus pasteurisierter und mit Chlorcalcium regenerierter Milch durch gleichzeitigen Zusatz von peptonisierenden und Milchsäurebakterien einen guten Hartkäse mit normaler Reifung herzustellen. Dieser Versuch spricht deutlich für den guten Erfolg des Zusammenwirkens der beiden Bakteriengruppen.

Aus möglichst aseptisch gewonnener Milch zu Forschungszwecken Käse herzustellen hatte schon 1896 Dr. v. Freuden-

reich unternommen; in größerem Umfange und mit möglichster Sorgfalt kam jedoch die Methode erst 1901 und 1902 durch Freudenreich, Boekhout und O. de Vries, sowie Babcock und Russel zur Anwendung.

Damit wurde auch die Aufmerksamkeit auf die Bakterienflora der frisch gemolkenen, möglichst aseptisch gewonnenen Milch gelenkt. Die Resultate der einschlägigen Untersuchungen von Ward (Cornell Univ. Agr. Exp. St. 1900), Barthel (Revue générale du lait 1902. Milch-Zeitung 1903), Boekhout und O. de Vries (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901), Freudenreich und Thöni (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903), Gorini (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903), Lux (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903) u. a. lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1) Frisch gemolkene Milch enthält selbst bei peinlichst aseptischer Gewinnung (mit sehr seltenen Ausnahmen) immer eine größere Zahl von Bakterien (etwa 200 per 1 ccm). Dadurch erscheint die bisherige Ansicht von der Sterilität der Milch im Kuheuter, die sich auf vereinzelte Versuche von Duclaux und Freudenreich stützte, umgestoßen. Daß sich Bakterien schon in den Milchgängen des Euters vorfinden, wurde von Ward, Freudenreich, Barthel, Gorini an zahlreichen Gewebsproben, die dem Euter frisch geschlachteter Kühe entnommen wurden, nachgewiesen.

2) Die Bakterienflora dieser aseptisch gewonnenen Milch bestand fast nur aus Mikrokokken, und zwar vorwiegend weißen, nicht oder langsam verflüssigenden (nach Barthel Micrococcus candicans, Staphylococcus mastitis albus Guillebeau und Lux). Fast dieselben Bakterien finden sich nach Barthel in der Stallluft, sie verändern die Milch meist nicht.

3) Echte Milchsäurebakterien treten in dieser Milch nicht auf (entgegen einer früheren Behauptung Freudenreichs von 1896).

Für die Käserei sind folgende Ergebnisse gewonnen worden:

1) Die Milch im Euter enthält nicht die notwendigen Reifungsbakterien. Sowohl bei den ausgedehnten Versuchen Freudenreichs als auch von Boekhout und O. de Vries zeigten Käse aus aseptisch gewonnener Milch selbst nach 4 Monaten keine Reifungserscheinungen.

2) Bakterien aus dem Kuhkot sind nicht von Vorteil für die Käserei. Nach den Untersuchungen von Peter über geblähte Käse (Landw. Jahrb. der Schweiz. 1902) sind die Blähungserreger beim Emmentalerkäse hauptsächlich B. aërogenes und B. coli communis und dieselben stellen sich in größerer Menge nach Verunreinigung der Milch durch Kuhkot, insbesondere bei Verdauungsstörungen, sowie durch unreine Milchgeschirre und -Geräte ein.

3) Die Milchsäurebakterien stammen aus dem Futter, der Streu und den Milchgeschirren; sie finden sich auf Heu, Gras, Hautschuppen und Haaren der Kühe. Den gleichen Ursprung haben zweifelsohne auch die übrigen Bakterien, die bei der Käsereifung in Betracht kommen. (Nach Gorini finden sich allerdings große Mengen von zugleich Milchsäure und Lab bildenden, sowie das Kaseïn lösenden Kokken schon in den Milchgängen der Kühe. Ganz

ähnliche Kokken fand G. sowohl im Emmentaler als im Granakäse; dieselben dürften in näherer Beziehung zur Käsereifung stehen.)

Damit ist zugleich klargelegt, daß das Futter durch seine bakteriologische Beschaffenheit von größtem Einfluß ist auf das Gelingen der Käse.

Wenden wir uns nun den Forschungen zu, welche sich mit der Auffindung spezifischer Reifungserreger beim Emmentalerkäse beschäftigen, so muß zurückkommend auf die eingangs zitierte Gegenüberstellung Fischers zunächst hervorgehoben werden, daß Adametz und v. Klecki ihren Bacillus nobilis, den sie aus jungen Prima-Emmentalerkäsen herauszüchteten und über den 1900 die erste Publikation erschien[1]), nur als einen der Aroma- und Reifungserreger bezeichneten, daß ferner Adametz in der zitierten Publikation ausdrücklich hervorhob, daß im Sinne Weigmanns die Milchsäurebakterien bei der Käsereifung eine regulierende Rolle spielen und notwendig sind. Gerade die einseitige Uebertreibung, wie sie auch in der Darstellung Fischers zum Ausdruck gebracht ist, hat eine Kette von Mißverständnissen erzeugt.

Daß tatsächlich der Bac. nobilis die Reifung der Emmentalerkäse günstig beeinflußt, wurde nicht nur durch einige kleinere Versuchskäse, sondern bald darauf auch durch einen in größerem Maßstabe ausgeführten Versuch auf der kaiserlichen Herrschaft Holicz in Mähren dargetan[2]). Bei dieser Erprobung wurden 20 Käse im Gewichte von 50—62 kg, und zwar 9 ohne, 11 mit Zusatz von Milchkulturen des Bac. nobilis hergestellt. Bei der Bereitung stand leider kein gutes Naturlab, sondern nur Labextrakt (ohne Sauer) znr Verfügung; es wurden manche Fehler begangen und waren auch die Milchverhältnisse nicht die für Emmertalerkäserei erforderlichen, was übrigens die Versuche um so interessanter machte, da erprobt wurde, ob man auch unter solchen Verhältnissen mit bestimmten Reinkulturen einen brauchbaren Emmentalerkäse erzeugen könne.

Der Erfolg war tatsächlich ein durchschlagender. Die Kontrollkäse waren alle mehr oder minder mißraten und von schlechtem Geschmack, während die mit Kulturen von Bac. nobilis hergestellten gleichmäßig einen typischen recht guten Emmenthalergeschmack und bessere Teigbeschaffenheit — sie schienen den Kontrollkäsen in der Reifung voraus — zeigten. Der Geschmack war so charakteristisch, daß schon durch denselben alle Nobilis-Käse leicht zu erkennen waren. Da außerdem die Kulturkäse von den Kontrollkäsen abgesondert aufbewahrt wurden und bei der ersten Prüfung auch alle die deutliche Bezeichnung trugen, ist die Vermutung Freudenreichs (Milchsäureferment und Käsereifung. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902), es könnten die Versuchskäse verwechselt worden sein, ganz unstichhaltig. Wie Adametz

---

1) Adametz, Probeweise Verwendung von Reinkulturen eines Reifungs- und Aromabacillus des Emmentalerkäses (Bac. nobilis) in der Käsereipraxis. (Oesterr. Molk.-Ztg. 1900.)

2) Adametz, Neuere Versuche größeren Maßstabes mit Reinkulturen des Bac. nobilis etc. (Oesterr. Molk.-Ztg. 1900.)

in der zitierten Arbeit näher ausgeführt hat, lassen sich die Eigenschaften von Bac. nobilis wie die anderer aërober Tyrothrix-Arten mit verschiedenen Erscheinungen bei der Reifung der Hartkäse sehr gut in Einklang bringen. Hierher gehört: daß die Hartkäse wie die Weichkäse von außen nach innen reifen (obwohl von Adametz recht augenscheinlich mit Beweisen belegt, wird dieser Umstand doch von Freudenreich und anderen Fachmännern entschieden in Abrede gestellt); daß kleine Laibe schneller reifen als große (wird von Freudenreich und amerikanischen Forschern mit Rücksicht darauf, daß die größeren Käse meist wasserreicher sind, ebenfalls bestritten); daß Bac. nobilis tatsächlich ein feines Emmentaleraroma erzeugt und dieses wieder in der Rinde der Hartkäse zuerst auftritt; daß Bac. nobilis in Milchreinkulturen die typischen Eiweißzersetzungsprodukte, insbesondere Tyrosinkörner bildet, wie sie in älteren und schneller reifenden Emmentalerkäsen auftreten etc. Diese Erscheinungen lassen sich aus der aëroben Natur der in Frage kommenden Tyrothrix-Arten und ihrer Wirkungsweise auf das Kaseïn sehr gut erklären, während echte Milchsäurebakterien in der Regel nur die Reifung hindern.

Erst nachdem die günstige Wirkung von Bac. nobilis im Käse sichergestellt war, haben Adametz und von Klecki denselben zur Herstellung von Handelskulturen, die den Namen Tyrogen erhielten, abgegeben.

Die Ansicht Freudenreichs von der Wirkung der Tyrothrix-Arten und speziell von Bac. nobilis bei der Käsereifung steht den Schlüssen, die man aus diesen sehr günstigen Ergebnissen ziehen muß, diametral entgegen. Er behauptet auf Grund seiner Versuche: 1) daß die Tyrothrix-Arten und speziell Bac. nobilis in Emmentalerkäsen so selten und spärlich auftreten, daß sie für die Reifung bedeutungslos wären; 2) wenn sie in den Käse in größerer Menge eingeimpft wurden, so verschwanden sie wieder sehr bald daraus, weil sie die saure Reaktion, die im Anfang im Käse durch die Milchsäuregärung eintrete, nicht vertrugen und 3) bewirkten sie überhaupt keine Reifung, sondern erteilten dem Käse höchstens einen bitteren schlechten Geschmack. Da nun diese Behauptungen Freudenreichs und seiner Schüler diejenigen von Adametz und anderen aufheben würden, ist es notwendig, auf deren Begründung näher einzugehen und die Versuche, auf welche sich dieselben stützen, genauer zu verfolgen.

Es sind hier namentlich 3 Arbeiten in Betracht zu ziehen: 1) Freudenreich, Ueber einige Versuche mit „Tyrogen" (Bac. nobilis Adametz), Landw. Jahrb. der Schweiz 1901 und Centralbl. für Bakteriologie. Abt. II. 1902. 2) Gerda Troili-Peterson, Untersuchungen über das Vorkommen und die Vermehrung der Tyrothrix-Bacillen in Emmentalerkäsen, Landw. Jahrb. der Schweiz 1902. 3) Freudenreich, Milchsäureferment und Käsereifung, Landw. Jahrb. der Schweiz 1902 und Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1903.

Bei den Versuchen der ersten Arbeit stellte F. aus je 10 l Milch 6 Käse mit Tyrogenzusatz, 3 mit Zusatz von Bouillon- und

Milchkulturen des Bac. nobilis her. Aus der gleichen Milch wurde zu jedem Käse ein Kontrollkäse hergestellt, der meist auch einen Zusatz von einigen Kubikcentimetern eine Milchsäurebakterienkultur erhielt. Alle Tyrogen- und Nobiliskäse wurden mit Kunstlab, die Kontrollkäse mit Naturlab hergestellt, also unter ganz **ungleichen Bedingungen.** Die Resultate sind daher nicht vergleichbar und aus der Arbeit lassen sich, streng genommen, keine gültigen Schlüsse ziehen. Es ist ja aus der Praxis bekannt — und Freudenreich hat dies selbst im Verein mit Steinegger ausprobiert —, daß Emmentalerkäse, die mit Kunstlab und ohne Sauer bereitet werden, fast immer schlechter ausfallen; außerdem anerkennt ja auch Adametz die Nützlichkeit der Milchsäurebakterien bei der Käsereifung.

Freudenreich aber kommt zu folgendem Schluß: „Auch in dieser Versuchsserie scheint der Bac. nobilis resp. die von ihm gebildeten Enzyme den Käsereifungsprozeß in keiner Weise begünstigt zu haben. Höchstens dürfte er lösend auf das Kaseïn wirken; aber nach den Versuchen, aus welchen sich ergibt, daß er überhaupt sich nicht vermehrt, ist kaum anzunehmen, daß er in der Praxis diese Rolle spielt. Bis auf weiteres scheint es mir daher gar nicht wahrscheinlich, daß wir in dem Adametzschen Bac. nobilis den von ihm mit so vielen Pomp angekündigten Reifungserreger des Emmentalerkäses besitzen".

Diese Schlußreihe ist schon an und für sich nicht streng logisch, hält man sich aber genau an die einzelnen Versuchsergebnisse, so ist sie unhaltbar. Beurteilt man nämlich die Reifung nach der Menge der gebildeten löslichen Eiweißstoffe und der Eiweißzersetzungsprodukte (ausgedrückt durch die entsprechenden Stickstoffmengen, L. N. und Z. N. nach Bondzynski), welchen Maßstab Freudenreich selbst als den einzig richtigen hinstellt, so ergibt sich notgedrungen nur folgender Schluß: Die Tyrogenkäse zeigen weicheren Teig, bedeutend mehr lösliche Stickstoffsubstanz und meist auch mehr Eiweißzersetzungsprodukte. Da in diesen Versuchen Tyrogen und Bac. nobilis mit Naturlab, das nach den Versuchen Freudenreichs außerordentlich reich an Reifungsfermenten ist, konkurrieren mußte, so muß man denselben sogar eine ganz bedeutende Reifungsbeförderung zuschreiben.

Die folgende tabellarische Zusammenstellung der einschlägigen Versuche Freudenreichs zeigt dies unzweideutig.

(Siehe Tabelle p. 105.)

An die Versuche lassen sich noch folgende Bemerkungen knüpfen:

1) Auffallend ist, daß bei Versuch VI, wo die doppelte Menge Tyrogen (20 g) angewendet wurde, nur die Hälfte von löslicher Stickstoffsubstanz gebildet wurde. Dies deutet darauf hin, daß bei Anwendung übergroßer Mengen von Tyrogen oder Bac. nobilis die proteolytische Wirkung eher beeinträchtigt wird, weil sich die Bakterien in ihrer Lebenstätigkeit behindern.

2) Trotzdem per 1 g Käsemasse etwa 10000 Keime von Bac. nobilis zugesetzt wurden, konnte F. aus der frischen Käsemasse

		Kulturenkäse		Kontrollkäse	
		L. N.	Z. N.	L. N.	Z. N.
I.	5 Wochen alt	18,77	3,64	18,31	3,17
II.	$2^1/_2$ Wochen alt	30,73	4,97	16,25	3,93
III.	4 Monate alt	39,6	6,43	23,3	5,38
IV.	6 Wochen alt pasteurisierte Milch	21,69	1,88	18,8	2,61
V.	$3^1/_2$ Monate alt pasteurisierte Milch	21,59	2,27	16,8	3,36
VI.	3 Monate alt 20 g Tyrogen	15,86	3,87	14,69	3,35
VII.	2 Monate alt 200 Bouillonkultur	13,1	3,4	8,95	2,28
VIII.	3 Monate alt 10 g Tyrogen 100 Milchkultur	21,2	1,25	—	—
IX.	3 Monate alt pasteurisierte Milch 200 Bouillonkultur 200 Milchkultur	25,8	2,8	13,4 18,3	3,17 4,46

auf der Platte keine Bac. nobilis nachweisen; dies deutet doch auf eine Unzulänglichkeit der Isolierungsmethode.

Dasselbe gilt von den Versuchen Gerda Troili-Peterssons. Dieselben waren zweierlei: 1) Bakteriologische Untersuchung der Rinde von zwei jüngeren (2 und 6 Wochen) und zwei älteren (10 Monate und 1 Jahr) Käsen. 2) Bakteriologische Untersuchung des Innern von drei kleinen Versuchskäsen aus je 12 l Milch a) ohne Zusatz, b) mit 10 g Tyrogen, dem zehnfachen des vorgeschriebenen Quantums, c) mit Reinkulturen von Bac. nobilis 15 ccm sporenhaltiger und 5 ccm einige Tage alter Bouillonkultur.

Bei der Rindenuntersuchung fand Verf. bei 3 Käsen Tyrothrix-Bacillen, aber in geringer Menge, im Maximum 1:500000. Dagegen treten beträchtlich größere Mengen von verflüssigenden Kokken und Kurzstäbchen auf, 1—41 Proz. aller Keime (150 Millionen bei einjährigem Käse), und zwar mit dem Alter in steigender Menge. Bei unbefangener Beurteilung kann man sich kaum der Ansicht verschließen, daß die große Menge eiweißlösender Bakterien nicht ohne Einfluß auf die Reifung des Käses sein kann und dies eine Stütze bildet für die Ansicht, daß auch die Hartkäse von außen nach innen reifen. Verf. selbst fragt, warum man denn nur die Tyrothrix-Arten als Reifungserreger gelten lassen will und nicht vielmehr diese verflüssigenden Kokken und Kurzstäbchen.

(Schluß folgt.)

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem bakteriol. Institute der polytechn. Schule in Delft.

Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien.

Von **G. van Iterson jr.**

In diesem Referat findet man die Hauptresultate aus obengenannter Abhandlung [1]; die geschichtliche Uebersicht ist fortgelassen, dagegen sind neue Versuche und Betrachtungen hinzugefügt.

Unter „Denitrifikation im weitesten Sinne des Wortes" versteht man jede Reduktion von Stickstoffsauerstoffverbindungen durch Mikroben. Man kann dabei folgende Fälle unterscheiden:

1) Bei der Reduktion von Nitrat entsteht stets als erstes Produkt Nitrit (Göppelsröder, Meusel u. a.).

2) Nitrat und Nitrit können reduziert werden zu Ammoniak (Fichtenholz, Beijerinck und van Delden).

3) Diese beiden Stoffe können umgewandelt werden in unbekannte, nicht-flüchtige Stickstoffverbindungen (Berthelot).

4) Sie können bei einem sauren Medium Veranlassung geben zur Entwickelung von Stickstoff und Stickstoffsauerstoffverbindungen (Reiset u. a.).

5) Sie können im alkalischen Medium zersetzt werden unter Bildung von Stickstoffsauerstoffverbindungen (Gayon u. Dupetit).

6) Nitrat und Nitrit können in alkalischer Lösung Veranlassung geben zur Entwickelung von freiem Stickstoff ohne Stickstoffsauerstoffverbindungen, dieser Prozeß ist die „Denitrifikation im engeren Sinne des Wortes" und fast nur davon wird in folgender Mitteilung die Rede sein.

Die große Bedeutung der Denitrifikation im Kreislauf des Stickstoffes, für die Selbstreinigung von Boden und Wasser, für die biologische Reinigung von Abfallwässern und für den Ackerbau, sowie das merkwürdige Verhalten der denitrifizierenden Bakterien gegenüber dem freien und gebundenen Sauerstoff machten ein Studium über die Verbreitung und Isolierung dieser Mikroben sehr anziehend. Zur Erreichung dieses Ziels schien die Methode der „Anhäufungsversuche" das gegebene Mittel und zwar aus folgenden Gründen:

Das Wesen dieser Versuche ist die Ursache, daß man viele biologische Eigenschaften von den in den Vordergrund tretenden Arten voraussagen kann;

sie machen es möglich, eine bestimmte Art in einfacher und sicherer Weise aus der Natur zu isolieren, was besonders für variable Arten von großer Bedeutung ist;

sie machen uns bekannt mit einer Art in den verschiedenen Varietäten, wie sie im gebrauchten Infektionsmaterial anwesend sind, weil diese an übereinstimmende Kulturbedingungen geknüpft sind;

---

1) Verslagen der koninkl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. Dl. XI. 1902—1903. blz. 135.

auch wird das Identifizieren von Arten, das selbst nach guten Beschreibungen, angestellt nach frisch isolierten Kulturen, äußerst schwer ist, durch gute Anhäufungsversuche sehr erleichtert;

sie können außerdem von jedermann kontrolliert werden und machen den Untersuchenden unabhängig von dem Material, das durch andere isoliert ist.

1. Allgemeine Betrachtungen über Denitrifikation.

Die bis jetzt isolierten denitrifizierenden Bakterien sind alle aërob; in Flüssigkeiten, welche Nitrat oder Nitrit enthalten, können sie jedoch auch wachsen bei sehr geringem oder gar keinem Luftzutritt, so daß sie sich dann verhalten wie anaërobe Bakterien. Sie tragen dann den Sauerstoff vom Nitrat und Nitrit über auf die organischen Verbindungen, welche in der Kulturflüssigkeit anwesend sind, gemäß den Formeln:

$$5\,C + 4\,KNO_3 + 2\,H_2O = 4\,KHCO_3 + 2\,N_2 + CO_2$$
$$3\,C + 4\,KNO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3 + K_2CO_3 + 2\,N_2$$

Dieser Prozeß erinnert ganz an eine Gärung; durch ziemlich geringes Wachstum, also mit wenig Bakterienmaterial, bekommt man eine große Stoffumwandlung und starke Gasentwickelung. Wenn man eine gleiche Quantität organischer Stoffe für eine aërobe Kultur von denitrifizierenden Bakterien und für eine Denitrifikation mit diesen Mikroben gebraucht, so wird man im ersten Falle eine viel größere Quantität Bakterienmaterial bekommen als im letzten. Bei der Denitrifikation werden die vorhandenen organischen Stoffe schon schnell oxydiert, wenigstens wenn genug Nitrat hinzugefügt wird. Man sollte also glauben können, daß die Denitrifikation ein enzymatischer Prozeß ist, aber schon die Tatsache, daß die Denitrifikation durch Aeration gehemmt wird, während dagegen das Wachstum der denitrifizierenden Bakterien dadurch gefördert wird, beweist uns, daß dies nicht der Fall ist. Besondere Proben lehrten mich, daß die Denitrifikation notwendig verbunden ist mit Bakterienwachstum, welches, wie oben gesagt, nur sehr gering zu sein braucht um große Stoffumwandlung hervorgerufen.

Weissenbergs Hypothese, daß bei der Denitrifikation von Nitrat stets Nitrit als Zwischenphase auftritt, wurde bestätigt gefunden: Alle denitrifizierenden Arten, die ich untersuchte (Rehn), konnten, insoweit sie aus Nitrat Stickstoff freimachten, dies auch aus Nitrit tun. Außerdem konnte ich ebenso wie Burri und Stutzer eine Art isolieren, welche wohl aus Nitrit freien Stickstoff ausscheidet, aber Nitrat unverändert läßt. Zwar konnte nicht immer Nitrit als Zwischenphase nachgewiesen werden, aber diese Tatsache, welche auch bereits durch Sewerin und durch Künnemann festgestellt wurde, steht durchaus nicht im Widerspruch mit der Hypothese von Weissenberg: die Nitritzersetzung kann nämlich ebenso schnell oder schneller als die Nitritreduktion vor sich gehen.

Ebenso wie Künnemann nahm ich diesen Vorgang wahr bei einer Varietät von B. Stutzeri, aber es stellte sich heraus, daß dieses Resultat von den Kulturbedingungen abhängig ist: in Fleischbouillon mit 0,1 Proz. KNO_3 fand starke Stickstoffentwickelung statt,

während dagegen mit 4 Proz. KNO_3 schwache Gasentwickelung, aber starke Nitritbildung konstatiert wurde.

Um zu untersuchen, ob eine Bakterienkolonie denitrifiziert, wird von derselben ein Teil übergeimpft in sterile Reagenzröhren, mit 10—15 ccm Fleischbouillon, wozu 0,1 Proz. KNO_3 oder 0,1 Proz. KNO_2 hinzugefügt ist. Hierin verursachen denitrifizierende Bakterien nach 24 Stunden, bei 28°, eine starke Schaumentwickelung. Daneben wurden Lösungen von organischen Salzen, Extrakt von Erbsenblättern mit 2 Proz. Rohrzucker und Kartoffelextrakt, wobei auch hier 0,1 Proz. KNO_3 oder KNO_2 hinzugefügt wurde. Oefters wurden diese Kulturflüssigkeiten auch mit 10 Proz. Gelatine versehen und nach dem Kochen abgekühlt bis etwa 30°, dann wurde darin ein wenig Bakterienmaterial fein verteilt und darauf die Lösung in Reagenzröhren gegossen und zur Erstarrung gebracht. Bei dieser Methode, „Röhrenkultur", bleibt das sich entwickelnde Gas an der Stelle, wo es entsteht, als Blasen in der Gelatine, so daß man darin ein scharfes Erkennungsmittel hat für denitrifizierende Bakterien. Mit dieser letzten Methode konnte auch ungefähr die Anzahl der denitrifizierenden Keime geschätzt werden, die per Gramm Erde oder Wasser vorkommen, und zwar 2000 per Gramm Gartenerde und 100 per Gramm Kanalwasser.

2. Allgemeine Bemerkungen über Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien.

Für die Einrichtung meiner Versuche habe ich als Ausgangspunkt genommen die Arbeitsweise des Herrn Dr. Gran aus Bergen, welcher im Bakteriologischen Laboratorium zu Delft denitrifizierende Meeresbakterien isolierte. Ebenso wie er gebrauchte ich als Kohlenstoffnahrung Kalksalze von organischen Säuren, dies gab mir den doppelten Vorteil, daß diese Salze eine sehr exklusive Nahrung bilden und daß die alkalische Reaktion aufgehoben wird. Diese tritt sonst durch die Zersetzung von KNO_3 und Bildung von $KHCO_3$ sehr bald ein. Als Stickstoffnahrung wurde ausschließlich KNO_3 verwendet, wodurch die Entwickelung von vielen anderen, nicht-denitrifizierenden Mikroben gehindert wurde. Während dagegen der obengenannte Forscher in einer dünnen Flüssigkeitsschicht, also stark aërob, kultivierte, stellte es sich als ein wesentlicher Fortschritt heraus, wenn man anaërob arbeitet und also Vorteil zieht aus der speziellen Eigenschaft der denitrifizierenden Bakterien, ohne Luftzutritt in Gegenwart von KNO_3 wachsen zu können. Ich wählte darum für die Kultur die einfachste anaërobe Methode, „die Flaschenmethode", welche schon lange im Bakteriologischen Laboratorium zu Delft im Gebrauch ist, wobei eine gewöhnliche enghalsige Flasche mit gut eingeschliffenem Stöpsel ganz mit der Kulturflüssigkeit gefüllt wird.

Welche denitrifizierende Art sich schließlich anhäuft, hängt außer von der gewählten Substanz noch ab von schwer zu kontrollierenden Umständen, besonders von dem gegenseitigen Verhalten der Keime im gebrauchten Infektionsmaterial. Dies erklärt z. B., daß die Anhäufungsversuche für B. Stutzeri aus Kanalwasser

und aus Erde verschieden sind, Versuche, die weiter unten beschrieben werden.

3. Anhäufung von B. Stutzeri, Neumann und Lehmann. (Syn. B. nitrogenus Migula, B. denitrificans II, Burri und Stutzer).

Diese interessante Bakterie ist schon früher isoliert aus Stroh (Burri und Stutzer) und von Pferdemist (Künnemann). Durch konsequent durchgeführte Anhäufungsversuche konnte ich dieselbe isolieren aus Erde, Kanalwasser, Jauche und Pferdemist.

Folgender Versuch führte stets zu einer Reinkultur dieser Bakterie aus Kanalwasser:

Eine Stöpselflasche von etwa 200 ccm Inhalt wird zu einem Teil angefüllt mit frischem Kanalwasser und jetzt werden 2 Proz. Calciumtartrat, 2 Proz. KNO_3 und 0,05 Proz. K_2HPO_4 (berechnet nach dem gesamten Inhalt), hinzugefügt. Dann wird die Flasche bis in den Hals mit Kanalwasser angefüllt und der Stöpsel vorsichtig darin gesteckt, so daß ein wenig Wasser aus dem Halse gepreßt wird. Die Flasche, die auf diese Weise ohne eine einzige Luftblase gefüllt ist, stellt man in einen Thermostaten von 28°.

Nach einem Tage fängt schon Gasentwickelung an in dem ungelösten Tartrat (bei dieser Temperatur löst sich nur ungefähr 1 Proz.), nach 3 oder 4 Tagen ist der Prozeß im vollen Gange, wobei ein grobblasiger Schaum entsteht, der einen großen Teil der Flüssigkeit aus der Flasche preßt. Das entwickelte Gas besteht aus CO_2 und N_2, so daß die Kultur anaërob bleibt. Nach etwa 12 Tagen ist der Prozeß vollendet.

Macht man von einer starken Gärung eine Streukultur auf Fleischgelatine, so bekommt man neben vielen anderen Arten schon mehrere Kolonieen von B. Stutzeri, aber um eine vollständige Anhäufung dieser Art zu bekommen, muß man aus der ersten Flasche überimpfen in eine neue von etwa 50 ccm. Diese wird sterilisiert und dann mit folgender steriler Flüssigkeit gefüllt: Leitungswasser 100, Calciumtartrat 2, KNO_3 2, K_2HPO_4 0,05. Nach Impfung füllt man die Flasche in obenbeschriebener Weise ganz an. Beim Aussäen einer solchen Ueberimpfung ergibt sich, daß alle schmelzenden Kolonieen und die meisten fluoreszenten verschwunden sind, während B. Stutzeri nach 3 oder 4 Tagen in sehr großer Anzahl hervortritt. Durch dreimalige Wiederholung dieser Ueberimpfung kommt man praktisch zu einer Reinkultur dieser Art.

Auch aus Erde vom Garten des Bakteriologischen Laboratoriums bekam ich dieselbe Bakterie oft mit folgender Flüssigkeit: Leitungswasser 100, Calciummalaat 2, KNO_3 1, K_2HPO_3 0,05, bisweilen wurde dabei jedoch in großer Anzahl das später beschriebene B. denitrofluorescens angetroffen.

Die Kolonieen von B. Stutzeri auf Fleischgelatine sind äußerst charakteristisch, durch die Lupe gesehen gleichen sie einer Rosette oder sie haben eine unregelmäßig gefaltete, mattgraue Oberfläche. Bei 30-maliger Vergrößerung zeigen sie ein Bild wie in Fig. 1—4 der Abhandlung angegeben ist. Junge Kolonieen lassen auch

oft eine gefaltete Struktur sehen (Fig. 5). In den Kolonieen nimmt man stets ein feines Präcipitat wahr, bisweilen auch sehr deutliche Kristalle, die sich auch in der Gelatine um die Kolonieen herum vorfinden können. Diese Eigenschaften gehen bei älteren Kulturen verloren, eine andere sehr charakteristische bleibt jedoch stets bestehen: das Haften der Kolonieen an der Gelatine.

Sehr hervortretend ist die Kultur auf sterilisierten Kartoffelscheiben, worauf der gefaltete und gewundene Charakter der Kolonie sehr deutlich hervortritt.

Die Substanzen, welche geeignet sind, als Kohlenstoff oder Stickstoffnahrung für diese Art zu dienen, sind festgestellt nach der auxanographischen Methode von Prof. Beijerinck, weil diese in einfacher Weise einen Maßstab liefert für den Unterschied der Assimilisationsfähigkeit der verschiedenen Substanzen. Weiter wurde diese Bakterie auf die Abscheidung von Enzymen, die Bildung von Alkali, von Indol und von H_2S untersucht.

Sehr bemerkenswert ist das Verhalten dieser Bakterie gegenüber freiem Sauerstoff. Die Bewegungsfigur im Glaskasten zeigt eine Linie in ziemlich großer Entfernung von dem Meniscus, die Wachstumsfigur jedoch zeigt ausschließlich Wachstum in dem Meniscus. In diesem Verhalten stimmt diese Mikrobe also überein mit den aëroben Spirillen.

B. Stutzeri ist eine stark denitrifizierende Art: zu Fleischbouillon kann bis 4 Proz. KNO_3 und bis 1 Proz. KNO_2 hinzugefügt werden, ohne daß die Gasentwickelung aufhört. Bei der „Röhrenkultur“ in Fleischgelatine mit 0,1 KNO_3 treten die Blasen in der ganzen Röhre auf, während dagegen bei B. vulpinus die Blasen nur in einem gewissen Abstande von dem Meniscus zu finden sind.

4. Anhäufung von Bacillus denitrofluorescens n. sp.[1]).

Bei meinen Versuchen bekam ich öfters schöne Kulturen einer denitrifizierenden Bakterie, welche die Gelatine zum Schmelzen bringt und ein stark fluoreszierendes Pigment bildet. Doch gelang es mir nicht für diese Art, die auch schon von Künnemann isoliert wurde, einen guten Anhäufungsversuch zu finden. Dies ist mir jedoch wohl gelungen für eine fluoreszierende Bakterie, welche die Gelatine nicht schmelzt. Dieser habe ich den Namen B. denitrofluorescens gegeben.

Ein Fläschchen von 50 ccm wird ganz gefüllt mit folgender Kulturflüssigkeit: Leitungswasser 100, Calciumcitrat 2, KNO_3 und K_2HPO_2 0,05. Als Infektionsmaterial dient 1—2 g Gartenerde und die Kultur geschieht bei 28°. Beim Auszählen der 2. oder 3. Ueberimpfung auf Fleischgelatine bekam ich Kulturen, welche fast ausschließlich Kolonieen dieser Art zeigten. Auch in Pferdemist, Kanalwasser und Jauche habe ich diese Bakterie angetroffen. Die Kolonie auf Fleischgelatine gleicht ganz einer der meist allgemein verbreiteten fluoreszenten. In jungen Kulturen auf Fleischgelatine

1) Später sind auch von Christensen zwei fluoreszierende Denitrifikationsbakterien beschrieben, welche die Gelatine nicht schmelzen.

fluoresziert der Farbstoff blau, in alten grün und darin bildet sich ein weißes Präcipitat.

Auxanographisch wurde die Nahrung dieser Bakterie studiert, während sogleich Alkalibildung, Enzymabscheidung, Produktion von H_2S und von Indol untersucht wurde.

Im Verhalten gegenüber freiem Sauerstoff stimmt B. denitrofluorescens mit allen Fluoreszenten überein: sowohl die Bewegung als das Wachstum gaben eine Anhäufung in dem Meniscus.

5. Anhäufung von B. vulpinus n. sp.

Durch Kultur in Erlenmeyer-Kolben unter Anwendung von Calciumtartrat und KNO_3 konnte eine sehr unvollkommene Anhäufung dieser Art erzeugt werden; dadurch, daß man den Luftzutritt teilweise abschloß, konnte ein besseres Resultat erzielt werden und zwar auf folgende Weise. Eine Kulturflasche von 50 ccm Inhalt wurde bis auf ca. 2 ccm gefüllt mit nachstehender Flüssigkeit: Leitungswasser 100, Calciumtartrat 2, KNO_3 0,1, K_2HPO_4 0,05. Als Infektion dienten 1—2 g frischer Gartenerde, aber auch in Kanalwasser wurden verschiedene Varietäten von B. vulpinus angetroffen.

Die Denitrifikation tritt nur langsam ein und ist auch schwächer als bei den anderen Arten. Schon beim Aussäen der Rohkulturen auf Fleischgelatine wurden einige Vulpinuskolonieen wahrgenommen, bei der Aussaat der Ueberimpfungen wurden die großen, flachausgebreiteten, durchscheinenden, fuchsfarbigen Kolonieen öfters sehr zahlreich. Eine vollständige Anhäufung dieser Art wurde jedoch niemals erzielt.

Es ist eine interessante Eigenschaft von B. vulpinus, daß das braune Pigment nur unter dem Einfluß des Lichtes entwickelt wird, bei Versuchen ohne Lichtzutritt können vollkommen farblose Kulturen erzeugt werden; bei Ueberimpfung im Licht kommt der braune Farbstoff wieder zum Vorschein.

Auch hier wurde auxanographisch die Assimilierbarkeit von verschiedenen Substanzen untersucht, während auch Säurebildung, Enzymabscheidung etc. einer Untersuchung unterworfen wurde.

Bei der Röhrenkultur in Fleischgelatine mit 0,1 KNO_3 nimmt man die Bildung der Blasen ausschließlich in geringer Entfernung von dem Meniscus wahr, und da auch die Kultur nicht gelingt in einem Fläschchen, das ganz mit Flüssigkeit gefüllt ist, so muß man annehmen, das diese Bakterie für die Denitrifikation ziemlich große Quantitäten Sauerstoff braucht. Trotz dieses abweichenden Verhaltens gegenüber dem Sauerstoff zeigt die Bewegungsfigur dieser Bakterie den Spirillentyp wie B. Stutzeri.

6. Die Bedeutung der Zusammenwirkung von Nitrifikation und Denitrifikation.

Schon 1873 hat Schlösing angezeigt, daß in demselben Boden, worin noch bei Anwesenheit von 1,5 Proz. Sauerstoff Nitrifikation möglich ist, bei vollständigem Luftabschluß Denitrifikation eintritt. Folgender Versuch führte mich auch zu dem Resultat, daß Nitrifikation und Denitrifikation im selben Medium auftreten

können. Gartenerde wurde in einer dünnen Schicht Leitungswasser verteilt und hierzu wurde 0,05 Proz. K_2HPO_4 hinzugefügt (ein wenig Kreide war dabei günstig). In dieser Lösung wurde bei 28° die Bildung von Nitrat, infolge der Nitrifikation, deutlich wahrnehmbar. Nach etwa 3 Wochen, als eine ziemlich große Quantität Nitrat gebildet war, wurde die Flüssigkeit mit der Erde in eine geschlossene Flasche gebracht und geimpft mit B. Stutzeri, bald trat jetzt Gasentwickelung ein und nach 2—3 Tagen war alles Nitrat und Nitrit verschwunden. Nachher stellte es sich heraus, daß die Impfung mit B. Stutzeri dabei überflüssig war. Auch Blattmist von einem stark nitrifizierenden Misthaufen, woraus große Quantitäten Nitrat extrahiert werden konnten, wurde mit der 5-fachen Quantität Wasser in ein Fläschchen gebracht, so daß es wieder ganz damit gefüllt war. Nach 2-tägigem Stehen bei 28° war kein Nitrat oder Nitrit mehr nachzuweisen. Dieselbe Quantität Blattmist mit demselben Volum Wasser in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht, so daß die Luft in die dünne Schicht ganz leicht zutreten konnte, zeigte nach einem Monat bei derselben Temperatur gar keine Verminderung von Nitrat und selbst keine Nitritbildung.

Welcher von den beiden Prozessen: „Nitrifikation" oder „Denitrifikation" in den Vordergrund tritt, hängt also an erster Stelle ab von der Aeration, welche bestimmt wird durch verschiedene Umstände, wie die Dichtigkeit des Bodens, die Verunreinigung durch organische Produkte, die Niederschläge u. s. w. In ein und demselben Misthaufen von Blättern, worin im Monat September nach trockenem Wetter sehr viel Salpeter angetroffen wurde, konnte im Januar, nachdem er ganz mit Regen durchtränkt war, keine Spur mehr davon nachgewiesen werden. Beide Prozesse können natürlich sehr gut lokalisiert in kleinen Bodenteilen nebeneinander vorkommen, während auch die Denitrifikation nicht immer zur Bildung freien Stickstoffs zu führen braucht, weil das dabei gebildete Nitrit sehr gut wieder zu Nitrat nitrifiziert werden kann.

Insofern bei der Denitrifikation Stickstoff frei wird, ist dies ein für den Landbau nachteiliger Prozeß und durch die Versuche von Wagner auf diesen Verlust aufmerksam gemacht, meinte man darin anfänglich eine große Gefahr zu sehen. Bei den praktisch gebrauchten Quantitäten Mist stellte sich der Verlust jedoch als ohne Bedeutung heraus. Der Verlust an Stickstoff beim Gebrauch von größerern Quatitäten Mist muß meines Erachtens nicht gesucht werden in der Anzahl denitrifizierender Bakterien, die mit dem Mist in den Boden kommen, denn darin sind schon sehr viele Keime vorhanden, wie aus meinen oben gezeigten Versuchen hervorgeht. Wahrscheinlich bildet hierbei ungenügende Aeration, also schlechte Nitrifikation, einen bedeutenden Faktor.

Immer wird bei der Denitrifikation (im weitesten Sinne des Wortes) organische Substanz vernichtet werden, dieser Prozeß trägt also sicher bei zur Selbstreinigung von Boden und natürlichen Gewässern. Auch bei der biologischen Reinigung von Abfallwässern, wobei man die natürlichen Prozesse schneller und besser geregelt wirken läßt als in der freien Natur, spielt die Denitrifikation eine

bedeutende Rolle. Solange nämlich die Oxydationsbassins gefüllt sind und vielleicht während der Füllung und Leerung derselben, wird Denitrifikation eintreten (solange der Sauerstoff nicht unter 1,5 Proz. beträgt, wird noch Nitrifikation möglich sein). Anfangs wird das bei der Nitrifikation sich bildende Nitrat zu Nitrit reduziert, aber dies kann, wie die Untersuchungen von Letts und Blahe und von Dunbar ergeben haben, auch zur Entwickelung von freiem Stickstoff führen.

Da alle aëroben Mikroben freien Sauerstoff übertragen auf die Kohlenstoffverbindungen, welche sie als Nahrung gebrauchen, werden sie alle beitragen zur Selbstreinigung des Bodens und Wassers, aber doch meine ich der kombinierten Wirkung der Nitrifikation und Denitrifikation einen größeren Anteil darin zuschreiben zu müssen und zwar aus folgenden Gründen:

1) Die kombinierte Wirkung dieser beiden Prozesse vernichtet schneller die organische Substanz als eine gewöhnliche Oxydation durch aërobe Mikroben. Schon früher habe ich nämlich darauf hingewiesen, daß die Denitrifikation erinnert an eine Gärung, weil ein ziemlich geringes Wachstum eine große Stoffumwandlung verursacht. Bei ein und demselben Wachstum wird bei denitrifizierenden Bakterien anaërob eine viel größere Quantität organischer Stoffe verbrannt als aërob. Auch für die Nitrifikation ist ein sehr geringes Wachstum von nitrifizierenden Fermenten nötig, dies folgt schon aus der äußerst geringen Quantität Bakterienmaterial, welche man in stark nitrifizierenden Kulturen antrifft, während auch eine gute Nitrifikation ganz erinnert an einen Gärungsprozeß.

2) Das bei der Nitrifikation gebildete Nitrat oder Nitrit verhindert anaërobe Prozesse und vermeidet dadurch Verwesung und Gestank. Die Buttersäure- und Methangärung, sowie die Sulfatreduktion (Beijerinck und van Delden) werden durch Nitrat gehemmt, während folgende Wahrnehmungen mich lehrten, daß andere, echte anaërobe Prozesse und auch die anaëroben Vorgänge, welche durch echte aërobe Bakterien verursacht werden (z. B. die Coli- und Aerogenesgärung) durch Nitrat zum Stillstand gebracht werden. a) Alle anaëroben Prozesse gehen vor sich in einem sogenannten überreduzierten Medium, d. h. einem Medium, worin verschiedene Farbstoffe, z. B. Methylenblau, entfärbt werden. Bringt man nun in irgend eine anaërobe Kultur ein wenig KNO_3 (z. B. 0,5 Proz.), so bleibt die Entfärbung von Methylenblau aus, während bei Zufügung von KNO_3 zu einer Flüssigkeit, in welcher dieser Farbstoff schon entfärbt war, der eindringende Sauerstoff sogleich die Farbe wieder zum Vorschein bringt. b) Wird eine Flasche Fleischbouillon bei 35° infiziert mit Erde, so tritt nach 1—2 Tagen stinkende Fäulnis ein; wird jedoch zuvor Nitrat oder Nitrit hinzugefügt, so sind diese Substanzen im stande, die Verwesung und den Gestank vollkommen zu verhindern. Sobald durch zugleich auftretende denitrifizierende Bakterien die Stoffe vollkommen vernichtet sind, tritt sofort Fäulnis ein; wird später aufs neue Nitrat oder Nitrit hinzugefügt, dann steht dieser Prozeß sogleich wieder still. c) Zwei Kolben von je 5 Liter wurden bis in den Hals gefüllt mit stinkendem Graben-

wasser, worin infolge von vorhandenen organischen Stoffen (Blättern u. s. w.) starke Sulfatreduktion stattfand. Bei beiden Kolben wurde jetzt 0,01 Proz. K_2HPO_4 hinzugefügt und bei einem außerdem noch 0,1 Proz, KNO_3. Nach Verlauf von 2 Tagen war in dem letzten Kolben der Gestank vollkommen verschwunden und kein H_2S war mehr nachzuweisen, während der andere Kolben starken Geruch und viel H_2S anzeigte. Nach 2 Monaten war dieser Unterschied noch derselbe, allein der Kolben mit KNO_3 war vollkommen klar, während der andere sehr trübe geworden war.

Das durch Nitrifikation gebildete Nitrat übt also eine reinigende Wirkung aus und absichtliche Hinzufügung davon kann in bestimmten Fällen sicherlich zur Reinigung von Abfallwässern etc. dienen. Jedenfalls muß man bei der biologischen Reinigung danach trachten, soviel wie möglich von diesem Stoff zu produzieren, weil man damit noch anderes Wasser reinigen kann (Manchester).

Auf dieser Eigenschaft von Nitrat, anaërobe Prozesse zu verhindern, beruht auch die Anwendung dieses, Stoffes um die Gärung in dem Käse aufzuhalten (Beijerinck) und sein Gebrauch zum Konservieren von Eßwaren.

Daß in dem Boden Nitrat eine reinigende Wirkung ausübt, geht auch hervor aus den Versuchen von Wollny, der zeigte, daß dies der einzige Stoff ist, der im Boden die Oxydation der organischen Stoffe befördert.

7. Zusammenfassung.

1) Das Hauptprinzip meiner Anhäufungsversuche war, den Luftzutritt ganz oder teilweise auszuschließen. In dieser Weise gelang es mir, durch Kultur in Lösungen von organischen Salzen und Nitrat, viele denitrifizierende Bakterien, allein durch wiederholte Ueberimpfung in mehr oder weniger vollkommene Reinkulturen zu bringen. Die Versuche gaben immer ein konstantes Resultat und lieferten B. Stutzeri Neumann und Lehmann, B. denitrofluorescens n. sp. und B. vulpinus n. sp.

2) B. Stutzeri verdient Aufmerksamkeit durch die ganz eigentümliche Struktur der Kolonieen (siehe Abbild.).

3) B. denitrofluorescens ist das erste Beispiel einer denitrifizierenden, nicht verschmelzenden Fluorescenz.

4) B. vulpinus ist eine chromophore Pigmentbakterie, wovon das Pigment allein durch Wachstum im Licht entsteht.

5) B. Stutzeri und B. vulpinus verhalten sich gegenüber dem freien Sauerstoff wie aërobe Spirillen, B. denitrofluorescens wie eine gewöhnliche aërobe Bakterie.

6) Ebenso wie in Ackererde und Mist, wie auch schon andere Forscher gefunden haben, habe ich die allgemeine Verbreitung von denitrifizierenden Bakterien festgestellt auch in Kanalwasser und Jauche.

7) Die denitrifizierenden Bakterien können selbst mit den geringsten Quantitäten von vielen organischen Substanzen, bestimmte Quantitäten Nitrat unter Bildung von freiem Stickstoff zum Verschwinden bringen.

8) In derselben Bodenart, worin Nitrifikation stattfinden kann bei Aeration, kann Denitrifikation auftreten bei Luftabschluß.

9) Die kombinierte Wirkung von Nitrifikation und Denitrifikation spielt eine bedeutende Rolle bei der Selbstreinigung des Bodens und der natürlichen Wässer, sowie bei der biologischen Reinigung von Abfallwässern.

Diese Versuche wurden ausgeführt unter Leitung des Herrn Prof. Dr. M. W. Beijerinck im Bakteriologischen Laboratorium der Polytechnischen Schule zu Delft. Autoreferat.

Institut für Gärungsindustrie, Berlin.

Henneberg, W., Eingesandte Holzproben aus gereinigten Brennereigärbottichen. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. No. 5.)

Es wurden von 38 Kartoffelbrennereien und einer Kornbrennerei Holzproben aus 58 gereinigten Gärbottichen und 4 Hefegefäßen untersucht, um den Erfolg der in der Praxis üblichen Reinigung mit verschiedenen Desinfektionsmitteln näher festzustellen.

Da die Essigbakterien und „wilden“ Milchsäurebacillen (es sind dies die Arten, welche im Gegensatz zum Kulturmilchsäurebacillus, B. Delbrücki, bei der Gärtemperatur der Hefe, 27,5—30° C, üppig wachsen und teilweise sehr schädlich sind, da sie die Hefe lähmen, siehe das folgende Referat) sowie die Kahmhefen in den hängenden Tröpfchen sich gut entwickeln, wurde nur diese Untersuchungsmethode angewandt. Auf den Nachweis der Buttersäurebakterien wurde zunächst verzichtet. In gut geführten Kartoffelbrennereien scheinen letztere nicht aufzukommen.

Als Desinfektionsmittel wurde in 24 Brennereien Kalkmilch, in 3 doppeltschwefligsaurer Kalk, in 2 Salzsäure, in 1 Schwefelsäure und in 3 Antiformin angewandt. Nur heißes Wasser ohne Desinfektionsmittel wurde in 2 Brennereien benutzt. Zugleich wurde, wie angegeben, in allen Fällen mit grobem Sand und heißem Wasser (Abbürsten) gereinigt.

In 51 Proben (aus 35 Brennereien) fanden sich „wilde“ Milchsäurebacillen, in 19 (aus 15 Brennereien) Essigbakterien und in 16 (aus 13 Brennereien) Kahmhefen. Die übrigen Funde haben kein weiteres Interesse.

Die Proben aus den Hefegefäßen und Kornbrennereigärbottichen zeigten ähnliche Organismen. Nur 3 Proben waren keimfrei: In einem Falle war mit konzentrierter Kalkmilch, in einem anderen mit Kalkmilch und folgendem Ausdämpfen gereinigt worden, und in einem dritten war der noch neue Bottich ebenfalls mit Kalkmilch behandelt.

In 32 mit Kalkmilch gereinigten Bottichwänden wurden 25mal wilde Milchsäurebacillen, 13mal Essigbakterien und 8mal Kahmhefen — in 7 mit doppeltschwefligsaurem Kalk gereinigten Bottichen 5mal wilde Milchsäurebacillen (keine Essig-

bakterien und Kahmhefen) — in 3 mit Antiformin behandelten Bottichen 3mal wilde Milchsäurebacillen und 1mal Kahmhefen, und schließlich in 2 mit Salzsäure behandelten 2mal wilde Milchsäurebacillen und 1mal Essigbakterien gefunden. Die eine mit Schwefelsäure gereinigte Bottichwand enthielt wilde Milchsäurebakterien und Kahmhefen. Von den 5 nur mit heißem Wasser behandelten Bottichen waren in 5 wilde Milchsäurebacillen, in 2 Essigbakterien und ebenfalls in 2 Kahmhefen nachzuweisen.

Die Desinfektionsmittel töten also die in den Holzporen befindlichen Organismen nicht ab. Trotzdem war nur von 2 Brennereien eine ungewöhnlich große Säurezunahme und eine schlechte Vergärung beobachtet worden. Die genannten Schädlinge können nach diesen Befunden in vorschriftsmäßig geführten Betrieben nicht aufkommen. Eine Verminderung der Reinlichkeit dürfte aber nicht ratsam sein, um eine stärkere Zunahme der Schädlinge an den Holzwandungen zu verhüten.

Es mag noch bemerkt sein, daß die Untersuchungen nicht erkennen ließen, ob Eichenholz- oder Kiefernholzbottiche geeigneter seien. Einige Bottiche waren 10—39 Jahre im Gebrauche. Alte morsche Holzwände oder solche mit zerblättertem Lackanstrich sind natürlich sehr schwer zu reinigen, wie auch die eingesandten Proben erwiesen. Autoreferat.

Henneberg, W., Einfluß verschiedener Milchsäurebacillenarten und einer Essigsäurebakterienart auf die Gärung der Hefe in Getreidemaische. (Schädliche Milchsäurebacillen.) (Zeitschrift für Spiritusindustrie, Jg. XXVII. 1904. No. 9.)

Da verschiedene Milchsäurebacillenarten, wie auch aus vorstehendem Referat hervorgeht, in den Maischen der Brennereien äußerst häufig sind, mußten größere Versuchsreihen angestellt werden, um über den Einfluß solcher Arten auf die Vergärung der Maischen Klarheit zu erlangen.

Verf. hatte schon in seinem Referat über Milchsäurebakterien (Ctbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XI, 1903, Nr. 4/5, p. 159, 161) die Vermutung ausgesprochen, daß verschiedene Milchsäurebakterienarten als Schädlinge in der Brennerei auftreten können. Dies hat sich, wie aus neuen Versuchen hervorgeht, bestätigt.

Der l. c. p. 160 beschriebene Bacillus Beijerincki war aus einer schlecht vergärenden Kartoffelmaische isoliert. Wie aber damals angegeben, konnte die Schädlichkeit dieser Art nicht nachgewiesen werden. Er gehört zu den „wilden Milchsäurebacillen-Arten“, die keine flüchtige Säure (Essigsäure neben Alkohol und Kohlensäure) bilden können. Zu dieser Gruppe gehören auch B. Maerckeri (aus Getreidemaische), B. Listeri, Wortmanni, Leichmanni I, II u. III (aus Preßhefe). Dagegen bilden B. Hayducki und Buchneri (aus der Preßhefe) flüchtige Säure, wie schon in

früheren Versuchen nachgewiesen wurde. Außer einigen dieser genannten Arten wurden die nicht aus Brennereien oder Hefefabriken stammenden Arten: B. brassicae fermentatae, B. cucumeris fermentati, B. Wehmeri, Saccharobacillus pastorianus, S. p. var. berolinensis (siehe Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXVI. No. 22—31, auch Sonderabdruck bei Parey-Berlin, und oben angeführtes Referat) und einige aus eingesandten Holzproben aus Brennereigärbottichen (siehe vorhergehendes Referat) isolierte Arten in ihrem Einfluß auf die Hefegärung untersucht. Von letzteren wurde 1 Essigsäurebakterienart (B. oxydans?), ferner Bacillus I (= Beijerincki?), Bacillus III (= Leichmanni III?), Bacillus IV (= neue Art), Bacillus V (= Wehmeri?) zu diesen Versuchen ausgewählt. Die Versuchseinrichtungen und die wichtigsten Ergebnisse waren folgende:

Es wurde Gerstenmalzschrotmaische von ca. 18—22° Bllg. angewandt. Die Bacillen wurden entweder zugleich mit der Hefe oder 24 Stunden vor dem Hefezusatz (stets Rasse II) in die Maische gebracht. Daneben wurden Maischen nur mit Bacillen und andererseits nur mit Hefe zum Vergleich angestellt.

Die Versuche haben nun gezeigt, daß folgende Arten (wie auch teilweise aus früheren Untersuchungen schon hervorging) in Maischen flüchtige Säure (vor allem Essigsäure) und etwas Alkohol und Kohlensäure erzeugen.

B. Haydучki 0,7—1,8 ccm flüchtige Säure ($^1/_{10}$ Normal-Natronlauge für 10 ccm des Destillats 100 ccm von 100 ccm Maische) 0,5 Vol.-Proz. Alkohol bei 22,6 ccm Gesamtsäure (für 10 ccm Maische).

B. brassicae fermentatae 3,6 ccm bei 22,4 ccm Gesamtsäure.

B. Buchneri 0,9—1,8 ccm und 0,3 Vol.-Proz. Alkohol bei 19,2 ccm Gesamtsäure.

B. panis fermantati 2 ccm flüchtige Säure, 21,4 ccm Gesamtsäure.

B. Wehmeri 1,8 ccm flüchtige Säure, 20,4 ccm Gesamtsäure.

S. pastorianus 1 ccm flüchtige Säure, 13,6 ccm Gesamtsäure.

S. p. var. berolinensis 1,6 ccm flüchtige Säure, 16 ccm Gesamtsäure.

Bacillus V (= Wehmeri?) 0,4—0,6 ccm flüchtige Säure, 11,8 ccm Gesamtsäure.

B. IV (neue Art) 1,6 ccm flüchtige Säure, 20,8 ccm Gesamtsäure.

Die genannten Zahlen wurden in einigen Versuchen gefunden und mögen als Beispiele gelten.

Das Essigbakterium kam bei Anwesenheit der Hefe nicht auf.

Die geprüften 17 Milchsäurebacillenarten wachsen

und säuern bei Gegenwart der Hefe bei 27,5—30° C. Alle die Arten, die keine flüchtige Säure bilden, schaden der Hefe nicht, dagegen verursachen sämtliche oben genannte Arten, die flüchtige Säure erzeugen, eine schlechte Vergärung, sind also Schädlinge der Brennereien und der Hefefabriken.

Je mehr flüchtige Säure gebildet wird, desto mehr wird die Hefe gelähmt, die Maische weniger weit vergoren, also auch weniger Alkohol erzeugt.

Ist die Hefe in kräftiger Gärung, so können die nachträglich zugesetzten Schädlinge keinen hemmenden Einfluß mehr auf die Hefe ausüben. Darum ist eine der Hauptaufgaben in der Praxis die Aussaat einer kräftigen Hefe.

Wenn Hefe zugleich mit den Bacillen in die Maische gebracht wurde, so entwickeln sich zunächst beide kräftig. Nach 24 Stunden bleibt die Säuremenge bei den nichtschädlichen Arten konstant, wahrscheinlich weil dann der Zucker fehlt, oder der entstandene Alkohol lähmt. Nach früheren Versuchen lähmt 3—8 Vol.-Proz. Alkohol die Entwickelung mancher Milchsäurebacillenarten. Die Schädlinge säuern aber weiter, da die Hefe geschwächt ist (also noch viel Zucker und erst wenig Alkohol vorhanden ist). In den Versuchen, in denen die Hefen erst 24 Stunden nach dem Bakterienzusatz in die Maische eingeimpft wurden, haben die Bakterien die Vorherrschaft. Sie säuern nicht nur weiter, sondern vielfach (bei 9 Arten) in erhöhtem Grade. Diese Erscheinung beruht wohl sicher darauf, daß 1—3 Vol.-Proz. Alkohol die Säurebildung anregt (siehe frühere Untersuchungen des Verf.). Bei 4 Bacillenarten war unter diesen Bedingungen sogar die schließliche Säuremenge bei Hefezusatz größer als in den Kontrollgefäßen ohne Hefe.

Es mag noch hervorgehoben sein, daß kein wesentlicher Unterschied zu bemerken war, wenn viel oder nur wenig Bacillen zugleich mit der Hefe eingeimpft wurden.

In vielen zur Untersuchung eingesandten Maischeproben (Kartoffelbrennereien) sind solche schädlichen Milchsäurebacillen bereits aufgefunden, sie dürften also häufig sein und öfters Betriebsstörungen verursachen. Betreffs näherer Einzelheiten (Titrationsergebnisse, Alkoholbestimmungen und Vergärungsgrad u. s. w.) muß auf die Abhandlung selbst verwiesen werden. (Autoreferat.)

Station de pathologie végétale.

Delacroix, Edouard-Georges, Travaux de la station de pathologie végétale. (Bulletin de la Société Mycologique de France, T. XIX, 1903, p. 342—376.)

Die Arbeit zerfällt in 5 Kapitel.

Das 1. Kapitel ist betitelt: Sur le „blanc“ des feuilles de Mûrier de Madagascar produit par Ovulariopsis moricola nov. sp. Beschreibung eines neuen Schädlinges auf der Unterseite lebender Blätter von Morus alba auf Madagascar. Der Ueberzug,

den der Pilz bildet, erinnert an Oidium. Da mit dieser neuen Hyphomyceten-Art die Pycniden einer Phoma vergesellschaftet sind, so konnte ein genetischer Zusammenhang konstatiert werden.

Das 2. Kapitel: A propos de Stromatinia Linhartiana Prill et Del (Sclerotinia Cydoniae Schellenberg). Monilia Linhartiana auf Prunus Padus ist identisch mit Ovularia necans (Pass.) auf Cydonia. Ein morphologischer Unterschied ist nicht nachweisbar. Nur Kulturversuche könnten biologische Verschiedenheiten dieser beiden „Arten“ aufdecken. Es empfiehlt sich also vorläufig nicht, Sclerotinia Linhartiana, Padi, Cydoniae, Mespili und Aucupariae in eine einzige Art zu vereinigen.

Das 3. Kapitel befaßt sich mit: Sur l'identité réelle du Sphaeropsis Malorum Peck. Verf. beweist die Identität dieser Art mit Diplodia pseudo-Diplodia Fuck. Die erstere Art muß daher jetzt lauten: Sphaeropsis pseudo-Diplodia (Fuck.) Delacroix.

Das 4. Kapitel: Sur le parasitisme du Dothichiza populea Sacc. et Briard sur diverses espèces de Peupliers. Auf lebenden Pappeln ist der Pilz ein gefährlicher Wundparasit. Fetter Humusboden und feuchte Witterung sind Förderer der Entwickelung und Verbreitung desselben. Eine sehr genaue Diagnose wird gegeben.

Das 5. Kapitel: Sur la pourriture des Pommes de terre. Ein sehr gediegener Abschnitt, da er sich mit der Beschaffenheit und der Ausbreitung der Mycels von Phytophthora infestans in der Knolle der Kartoffelpflanze beschäftigt.

Matouschek (Reichenberg).

Referate.

Bokorny, Th., Vergärung von Rohrzucker und Malzzucker bei hoher Zuckerkonzentration. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1903. 14. Nov.)

Es wurde vom Verf. schon neulich hervorgehoben, (Chem.-Ztg., 1903. No. 90), daß bei der Vergärung hochkonzentrierter Zuckerlösungen merkwürdige Unterschiede wahrgenommen werden zwischen Rohrzucker und Traubenzucker.

Rohrzuckerlösungen verlieren in folge steigender Konzentration ihr Gärungsvermögen eher als Traubenzuckerlösungen.

Das liegt daran, daß die Hefeinvertase eher inaktiv wird als das Gärungsferment, welch letzteres ja kein Wasser zum Vollzuge der Zuckerspaltung braucht, während die Invertase solches braucht und einer konzentrierten Zuckerlösung nicht zu entnehmen vermag.

Daß schließlich auch das Gärungsferment leidet, wurde ebenfalls angegeben. Letzteres geht sogar ganz zu Grunde, wenn die Einwirkung lange dauert.

Ueber die allmähliche Verminderung des Gärvermögens und die Grenze, bei welcher es ganz ver-

schwindet, wurden nun noch folgende Versuche aufgestellt (mit Rohrzucker und Traubenzucker):

1.		2.	
Wasser	30 g	Wasser	30 g
Rohrzucker	20 „	Traubenzucker	20 „
Preßhefe	10 „	Preßhefe	10 „

Die Konzentration der Zuckerlösung betrug (unter Hinzurechnung des aus der Hefe austretenden Wassers) etwa 35,3 Proz. Denn die Hefe enthält etwa zwei Drittel ihres Gewichtes Wasser, das ist im gegebenen Falle 6,66 g. Zugesetzt waren 30 g Wasser. Macht $30 + 6{,}66 = 36{,}66$ g.

$$\underset{\text{(Wasser u. Rohrz.)}}{55{,}66} : \underset{\text{(Rohrz.)}}{20} = 100 : x. \quad x = 35{,}3 \text{ Proz.}$$

Es trat in beiden Fällen schon bald (nach wenigen Stunden) kräftige Gärung ein. Nach 5 Tagen zeigte der Versuch, daß in beiden Fällen noch Gärungsvermögen vorhanden war, denn beim Verdünnen mit Wasser unter Zusatz von etwas Dextrose wiesen beide Flüssigkeiten kräftige Gärung auf.

3.		4.	
Wasser	30 g	Wasser	30 g
Rohrzucker	70 „	Traubenzucker (techn.)	70 „
Hefe	10 „	Hefe	10 „

Die Zuckerkonzentration berechnet sich hier auf 65,7 Proz.

Nach einigen Stunden war bei 3 kaum eine Spur von Gärungserscheinungen wahrzunehmen; bei 4 etwas Gärungsgeruch, der nach 24 Stunden etwas deutlicher wurde. Jedenfalls war hier die Gärung in sehr starkem Maße behindert, wenn auch nicht ganz vollständig unterdrückt; bei 3 mehr als bei 4, was auf das später zu erwähnende Verhalten des Invertins zurückzuführen ist. Bei 65,7 Proz. Zuckergehalt ist also eine Rohrzucker- bezw. Traubenzuckerlösung kaum mehr im stande, zu vergären, oder nur äußerst langsam. Dabei ist das Gärungsvermögen der Hefe zunächst keineswegs als vernichtet anzusehen. Denn beim Verdünnen mit Wasser nach eintägiger, ja sogar nach 5tägiger Versuchsdauer tritt die Gärung ein.

5.		6.	
Wasser	30 g	Wasser	30 g
Rohrzucker	50 „	Traubenzucker	50 „
Hefe	10 „	Hefe	10 „

Die Berechnung ergibt bei diesen beiden Versuchen eine Zuckerkonzentration von 57,9 Proz. Nach 24 Stunden keine Gasentwickelung, kein Gärgeruch in Versuch 5, dagegen beides in kräftigem Maße bei Versuch 6. Somit ist bei der Zuckerkonzentration 57,9 Proz. nicht das Gärvermögen, sondern das Inversionsvermögen der Hefe stark behindert. Der Rohrzuckerversuch weist nach 24 Stunden keine Gärungserscheinungen auf, nicht, weil das Gärferment unfähig ist, zu arbeiten, sondern weil das Inversionsvermögen gelähmt ist! Hier haben wir einen Fall, bei dem das Inversionsvermögen eher aufhört als andere fermentative Kräfte.

Als die Versuche 5 und 6 14 Tage lang stehen gelassen wurden,

ergab der Wässerungsversuch, daß das Gärungsvermögen in beiden Fällen erloschen war; ebenso bei Versuch 3 und 4.

Das Gärungsvermögen wird also durch konzentrierte Zuckerlösungen bei längerer Einwirkung dauernd vernichtet.

Wie kommt die „Zymase" zu dieser Vernichtung ihres Fermentationsvermögens durch Zucker?

Eine schädliche Wirkung der Spaltungsprodukte (Alkohol und Kohlensäure) ist bei Versuch 3 und 4 ausgeschlossen, weil es gar nicht zur Spaltung des Traubenzuckermoleküles kommt.

An eine Giftwirkung des Zuckers selbst ist wohl auch nicht zu denken, selbst bei hoher Konzentration nicht.

Da bleibt also kaum was anderes übrig, als anzunehmen, daß zum Bestande der Zymase etwas Wasser gehört, welches ihr nicht genommen werden darf.

Faktisch verliert auch die bei 25° vorsichtig an der Luft getrocknete Hefe bald ihr Gärungsvermögen.

Erträgt nun „Maltase" hochkonzentrierte Zuckerlösungen, und ist sie bei 50—75 Proz. Zuckergehalt der Gärlösung noch wirksam?

Folgende Versuche wurden aufgestellt:

	a)		b)
Maltose	25,0 g	Maltose	12,5 g
Hefe	25,0 „	Hefe	25,0 „
	c)		d)
Maltose	16,0 g	Dextrose	25,0 g
Hefe	25,0 „	Hefe	25,0 „
	e)		f)
Maltose	28,6 g	Maltose	50,0 g
Hefe	25,0 „	Hefe	25,0 „

Wenn man das Wasser der Preßhefe zu 66,6 Proz., also deren Trockensubstanz zu 33,3 Proz. rechnet, so ergibt sich bei a) 58,7-proz. Zuckerkonzentration, b) 41,7-proz., c) 51-proz., d) 58,7-proz. e) 36,7-proz., f) 75-proz.

Bei a mit e trat Gärung ein; bei f trat schwacher Gärgeruch und geringes Aufschäumen ein, das übrigens allmählich zunahm.

Also unterbleibt die Malzzuckerspaltung selbst bei 75 Proz. Malzzucker noch nicht ganz und ebenso die Gärung; bei 33—58 Proz. geht sie ziemlich gut.

Es scheint, daß das malzzuckerspaltende Enzym die Hydrolyse noch kräftiger bewirkt als das Invertin; sogar bei der Konzentration 75 Proz. wird dem Zucker noch das Lösungswasser entzogen und dasselbe zur Hydrolyse verwendet.

Daß hier die Gärkraft bei 75 Proz. Zuckerkonzentration noch nicht ganz unterdrückt war, liegt vielleicht an einer etwas größeren Widerstandskraft der Hefe gegen hohe Konzentrationen, oder vielleicht auch daran, daß die oben durch Hydrolyse entstehenden Traubenzuckermolekeln leichter von dem Gärungsferment ergriffen und gespalten werden, als fertiger Traubenzucker.

Aehnliche Beobachtungen hat Verf. auch früher schon an Rohrzucker gemacht. Wenn Traubenzucker (infolge Anwesenheit von schädlichen Substanzen) nicht mehr vergoren wird, kann Rohrzucker

noch der Gärung (langsam) anheimfallen, weil die Gärkraft noch ausreicht, um Hexosenmoleküle im „status nascens“ zu spalten.

Autoreferat.

Bokorny, Th., Beeinflussung des Hefe-Invertins durch konzentrierte Zuckerlösungen. (Chem. Ztg., 1903, No. 90.)

Wohl nur ausnahmsweise kommt die Hefe in die Lage, auf sehr konzentrierte Zuckerlösung einzuwirken. Denn die Zuckersirupe sind kein Nährboden für Hefe.

Es fehlt die zum Wachstum unbedingt nötige Feuchtigkeit. Auch erfolgt eine direkt schädliche Einwirkung durch solch konzentrierte Lösungen. Die Hefe verliert bald ihre Lebensfähigkeit.

Um die Einwirkung der Hefe auf konzentrierte Zuckerlösungen zu studieren, muß man viel Hefe mit Sirup zusammenmischen, da ja eine Vermehrung ausgeschlossen ist.

Eine zufällig gemachte Beobachtung, daß Sirup, aus Rohrzucker hergestellt, nicht so leicht vergärt wie Traubenzuckersirup, brachte mich auf den Gedanken, daß das Invertin empfindlich sein könnte gegen hohe Konzentrationen, und zwar empfindlicher als das Gärungsferment, die „Zymase“ selbst. Genauere Versuche sollten über diese überraschende Beobachtung Aufklärung bringen. Denn das Invertin gehört sonst durchaus nicht zu den empfindlichen Enzymen. Während die „Zymase“, das ist das Gärvermögen der Hefe, durch 24stündigen Aufenthalt in 0,5-proz. Schwefelsäure vernichtet wird, weicht das Inversionsvermögen nicht aus der Hefe bei gleicher Behandlung. Die malzzuckerspaltende Kraft der Hefe wird dabei fast vernichtet. 1-proz. Oxalsäure schadet dem Inversionsvermögen der Hefe ebenfalls nicht; erst 5-proz. Oxalsäure zerstört die Inversionskraft der Hefe binnen 24 Stunden. Essigsäure von 1 Proz. vernichtet binnen 24 Stunden das malzzuckerspaltende Enzym der Hefe fast vollständig, nicht aber das Inversionsvermögen.

Das sei nur angeführt, um die sonstige Widerstandsfähigkeit der Invertase gebührend hervortreten zu lassen gegenüber anderen Enzymen. Die Empfindlichkeit der Invertase, von welcher manche Forscher berichten, konnte ich an Preßhefe nie beobachten. Nur bei höherer Temperatur, 35—40° z. B., wird auch die Invertase empfindlicher; darin unterscheidet sie sich nicht von anderen Enzymen. Möglicherweise sind die auf große Empfindlichkeit deutenden Versuchen mit Invertin bei dieser höheren Temperatur gemacht worden. Die Wirkung der Invertase auf Rohrzucker tritt bei normalen Bedingungen überraschend schnell und vollständig ein. Versetzt man z. B. eine 5-proz. Zuckerlösung mit einer ausreichenden Menge von Preßhefe, so läßt sich schon binnen weniger Minuten die Spaltung mittels Fehlingscher Lösung nachweisen. „Wenn die Invertase mit einer Rohrzuckerlösung vermischt wird, so ist ihre Wirkung zuerst eine sehr rasche, mit dem Verschwinden des Rohrzuckers nimmt sie aber immer mehr ab. Der Grad der Inversion kann immer durch eine bestimmte Zeitkurve dargestellt werden, wie sie Harcourt z. B. gegeben hat; sie drückt einen

chemischen Vorgang aus, bei dem keine weitere Bedingung wechselt, außer der Verminderung der sich verändernden Substanz" (Green, Enzyme, p. 121). Nach Sullivan und Thompson soll die günstigste Konzentration der Zuckerlösung bei etwa 20 Proz. liegen, wenn die Digestion bei 54° C durchgeführt wird. Unter diesem Prozentgehalte nimmt die Geschwindigkeit der Hydrolyse schnell ab; stärkere Lösungen werden nur wenig langsamer invertiert, bis zu einer Konzentration von 40 Proz. (a. a. O. p. 122). Meine eigenen Versuche hierüber mögen weiter unten Platz finden. Vorläufig seien einige Versuche erwähnt, welche zeigen, daß eine völlige Inaktivierung des invertierenden Fermentes durch Zuckerkonzentrationen erreicht werden kann, welche noch weit unter der Höchstkonzentration liegen. Ferner wird aus ihnen hervorgehen, daß die Invertase bei gewöhnlicher Temperatur beträchtlich leichter gehemmt wird durch Zucker von hoher Konzentration als die „Zymase".

Es wurde viel Preßhefe mit a) 26-proz. Traubenzucker, b) 26-proz. Rohrzucker, c) 41,7-proz. Traubenzucker, d) 41,7-proz. Rohrzucker, e) 48,8-proz. Traubenzucker, f) 48,8-proz. Rohrzucker, g) 58,8-proz. Traubenzucker, h) 58,8-proz. Rohrzucker, i) 74-proz. Traubenzucker, k) 74-proz. Rohrzucker zusammengebracht.

Bei a, b, c, d erfolgte Gärung, bei b und d somit auch Inversion.

Bei e trat erhebliche Gärung ein, bei f fast nicht.

Also war das Inversionsvermögen durch 48,8 Proz. Zucker fast aufgehoben, das Gärungsvermögen nicht.

Sogar bei 58,8 Proz. Traubenzucker trat noch kräftige Gärung, ein bei 58,8 Proz. Rohrzucker hingegen blieb sie völlig aus, was nur an der mangelnden Inversion gelegen sein konnte.

Erst bei der Konzentration von 74 Proz. verhielten sich beide Zuckerarten gleich.

Bei dieser etwa 74-proz. Konzentration des Zuckers trat weder im einen, noch im anderen Versuche Gärung ein. Also war hier auch das Gärungsferment unfähig geworden zu arbeiten. Wir sehen, daß die Invertase schon bei 48 Proz. Zucker zu arbeiten aufhört, die Zymase erst über 58,8 Proz. Freilich auf die Dauer ist die schädliche Einwirkung hoher Zuckerkonzentrationen auf die Invertase nicht so erheblich wie bei der „Zymase". Letztere wird schließlich dauernd inaktiviert, d. h. zerstört, während die Invertase beim Herausnehmen der Hefe aus der konzentrierten Zuckerlösung und Versetzen in 10—20-proz. Rohrzuckerlösung wieder lebenskräftig wird und dann unbegrenzt weiter wirkt, so oft ihr Zucker dargeboten wird. Soweit meine bisherigen Versuche reichen, kann die Invertase selbst durch höchstkonzentrierte Zuckerlösungen (Sirup von 80 Proz.) nicht dauernd inaktiviert werden. Sie erstrecken sich freilich nur auf wenige Wochen. Immerhin dürfte es von Interesse sein, zu erfahren, daß bei gewöhnlicher Temperatur die Inversionskraft der Hefe in konzentrierten Zuckerlösungen eher aufhört als die Gärkraft. Woher kommt überhaupt die nachteilige Wirkung jener Zuckerlösungen? Rasche Anhäufung von Inversions-

produkten kann nicht schuld sein, weil diese erstens nicht schädlich sind, und dann, weil es zu einer solchen unter Umständen gar nicht kommt, nämlich wenn man von Anfang an genügend konzentrierte Lösungen nimmt. Es kann sich hier nur um die zur Inversion nötige chemische Wasserbindung handeln. Bei gewissen Konzentrationen wird das Lösungswasser durch die Zuckermolekeln so stark festgehalten, daß eine chemische Verwendung zur Bildung von Hexosen nicht möglich erscheint. Namentlich bei Sirupen von 60—70 Proz. Zuckergehalt fällt dies auf. Man darf hier die denkbar günstigsten Bedingungen setzen (viel Hefe, Temperaturen von 40—50°), es gelingt nur sehr langsam eine Inversion. Bei gewöhnlicher Temperatur geht die Inversion kaum merklich vor sich.

Das angegebene Verhalten des Invertins gegen hochkonzentrierte Zuckerlösungen ist wohl auch zum Teil geeignet, die ungünstige Wirkung konzentrierter Zuckerlösungen auf die lebende Zelle selbst zu erklären; an eine Giftwirkung ist da natürlich nicht zu denken. Wahrscheinlich werden damit Stoffwechselprozesse eingestellt, welche eine Wasserverbindung erfordern und deren Ausbleiben den Tod der Zelle nach sich zieht. Autoreferat.

Bokorny, Th., Empfindlichkeit der Enzyme, speziell der Laktase gegen Alkohol und Säuren. (Milchzeitung. Oktober 1903.)

Alkohol und Säure sind Stoffe, denen die Hefe oft ausgesetzt ist. Wie verhalten sich Fermentations- und sonstige Kräfte dagegen?

Durch 2tägigen Aufenthalt von Hefe in 5-, 10- oder 20-proz. Alkohol wird das Assimilationsvermögen der Hefe geschädigt bezw. vernichtet.

Da nun die Enzyme in ihrer Empfindlichkeit gegen schädliche Einwirkungen sich dem Protoplasma mehr oder weniger annähern und durch dieselben Substanzen geschädigt werden wie das Protoplasma (siehe Verf. „Protoplasma und Enzym“, Pflüg. Arch., Bd. LXXXV 1901, und „Nochmals über Protoplasma und Enzym“, ebenda Bd. XCIII, 1903), so liegt doch der Gedanke nahe, ob denn die Enzyme eine Alkoholbehandlung vertragen, mit welchen Konzentrationen und wie lange Zeit sie behandelt werden dürfen.

Taucht man Hefe in viel absoluten Alkohol, so ist die Gärkraft binnen wenigen Minuten für immer verloren.

Also wird die „Zymase“ durch absoluten Alkohol binnen kurzer Zeit vernichtet.

Man darf übrigens nicht vergessen, daß es bei allen Fermenten eine dauernde und eine nur vorübergehende Inaktivität gibt.

Würde die Hefe in gewässerten Alkohol gebracht und gleichzeitig mit Zucker versetzt, so würde vielleicht die Gärung unterbleiben, ohne daß die Gärkraft für immer vernichtet wäre — je nach Konzentration des Alkohols und Dauer des Alkoholversuches.

Nimmt man 10—20-proz. Alkohol und bringt in denselben Hefe und Zucker zugleich, so tritt keine oder nur geringe Gärung ein.

Entfernt man aber nach 5 Tagen die Hefe aus dem Alkohol

und verbringt sie in wässerige Zuckerlösung, so tritt kräftige Gärung ein; also war die „Zymase“ nur vorübergehend inaktiv.

Beläßt man aber die Hefe 20 Tage in dem 10-proz. Alkohol, so tritt nachher beim Einbringen dieser Hefe in wässerige Zuckerlösung nur noch sehr geringe Gärung ein.

Also ist die „Zymase“ selbst gegen nur 10-proz. Alkohol empfindlich, wenn die Einwirkung wochenlang dauert.

Die Invertase hingegen ist wenig empfindlich gegen Alkohol.

Weniger widerstandsfähig ist wieder die „Maltase“ oder „Glukase“.

Was nun die Laktase anlangt, so wird nach den in genanntem Aufsatz angeführten Versuchen des Verfassers dieses Enzym selbst durch 10-proz. Alkohol nicht in seiner Tätigkeit behindert, durch 5-proz. natürlich noch weniger.

Gegen S ä u r e n pflegen die Enzyme, wie das Protoplasma, ziemlich empfindlich zu sein.

Ausnahmen freilich kommen bei beiden vor. So assimiliert das Protoplasma der Schimmelpilze noch bei beträchtlichem Säuregehalt der Nährlösung. Manche Enzyme ertragen bis zu 1 Proz. freie Säure längere Zeit.

Die „Zymase“ ist nicht allzu empfindlich gegen Säure (bei gewöhnlicher Temperatur).

Wird frische Preßhefe 26 Stunden lang bei 15—20° C in 0,5 oder 0,1- oder 0,02-proz. Schwefelsäure belassen, so geht nur durch die 0,5-proz. Säure das Gärvermögen verloren; Dextroselösung wird dann durch solche Hefe, welche der Einwirkung 0,5-proz. Schwefelsäure 26 Stunden lang ausgesetzt gewesen war und nachher herausgenommen und in Zuckerlösung verbracht wurde, n i c h t vergohren; wohl aber durch die Hefe aus 0,1- oder 0,02-proz. Lösung.

Binnen 5 Tagen aber ist die 0,1-proz. Schwefelsäure im stande, das Gärvermögen zu vernichten.

0,02-proz. Schwefelsäure aber vernichtet die Gärkraft binnen 6 Tagen noch nicht völlig.

Macht man dieselben Versuche nicht bei gewöhnlicher Temperatur, sondern bei 35—40° C, so wirkt 0,1-, sogar 0,2-proz. Schwefelsäure schon binnen 2 Tagen tödlich auf die „Zymase“ ein.

Durch M i l c h s ä u r e von 0,5 Proz. wird das G ä r v e r m ö g e n der Hefe bei gewöhnlicher Temperatur binnen 4 Tagen bedeutend herabgesetzt, so daß in der ersten Zeit (nach dem Herausnehmen der Hefe und Einsetzen in Gärlösung) gar keine Gasentwickelung bemerkbar ist. Später kommt die Zymasenwirkung etwas zur Geltung, indem sich Gasentwickelung zeigt und die Hefe aufsteigt.

Um das Verhalten der Laktase gegen Säuren zu prüfen, wurde K e f i r mit Wasser, Preßhefe, Milchzucker (bei d und f Traubenzucker), Milchsäure gemischt.

Letztere war bei Versuch c) zu 0,4, d) 0,8, e) u. f) 1,6 Proz. anwesend.

Es zeigte sich in allen Fällen Gärung. Also wird durch 0,4 bis 1,6 Proz. Milchsäure zunächst weder das Gärungsferment, noch die Laktase unwirksam gemacht. Letztere muß bekanntlich den

Milchzucker zuerst spalten, ehe er vergären kann. Bei langer Einwirkung mußte natürlich das Gärvermögen durch 1,6 Proz. Milchsäure leiden. (Autoreferat.)

Muth, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden. (Sonderabdruck aus dem XVI. Bd. der Verhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Karlsruhe. 1903. p. 1—58. Mit 20 Textfiguren.)

Ein recht dankenswertes Sammelreferat über den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von den durch Bakterien verursachten Umsetzungen im Boden! Einen sehr großen Raum nehmen natürlich die stickstoffumsetzenden Bakterien ein. Ohne sich zu sehr auf Einzelheiten einzulassen, gibt Verf. eine anregend geschriebene Darstellung der Resultate der Forschungen von Beijerinck, Winogradsky, Omelianski, Hiltner, Schultz-Lupitz u. a. Am Schluß folgen dann Angaben über die Zersetzungsvorgänge von Kohlehydraten, Fetten, Knochensubstanzen durch Bakterien. Schließlich werden die Schwefelbakterien gestreift sowie die für Tiere und Pflanzen pathogenen Spaltpilze.

Neger (Eisenach).

Hiltner und **Störmer,** Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Ges.-Amte. Bd. III. Heft 5. p. 445—545.)

Die Abhandlung beginnt mit ausführlichen Darlegungen zur allgemeinen Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchungen und bringt bei dieser Gelegenheit sehr beachtenswerte Vorschriften und Ratschläge. Die Zahl der Bodenbakterien wird festgestellt mittelst des Plattenverfahrens unter Anwendung der gewöhnlichen, schwach alkalischen Fleischbouillongelatine als Nährboden, wobei eine 8—10-tägige Aufbewahrung der Platten und eine in dieser Zeit herangewachsene Kolonieenzahl von etwa 150 pro Platte zur Bedingung gemacht wird. Bei so langer Beobachtung der Gelatineplatten müssen natürlich die verflüssigenden und die zu starkem Oberflächenwachstum neigenden Arten an einer zu weit fortschreitenden Entwickelung gehindert werden können. Die Verff. erreichen dies durch Berühren der gezählten Kolonieen mit einem Silbernitratstift, wodurch dieselben sicher abgetötet und außerdem infolge Bildung eines braunen Chlorsilberringes dauernd gekennzeichnet werden. Die zur Aussaat erforderlichen großen Verdünnungen des in seinen oberen Schichten außerordentlich keimreichen Bodens wurden durch genaues Abwägen der Erde unter Berücksichtigung ihres Wassergehaltes und nachherige gründliche Verteilung in sterilem Leitungswasser gewonnen. Die Vorzüge dieses Verfahrens vor dem von C. Fränkel angewendeten der direkten Aussaat eines bestimmten Volumens Erde werden ausführlich begründet. Die als Ausgangsmaterial für die Verdünnung dienende Menge Erde wird zweckmäßig nicht zu groß gewählt und richtet sich im übrigen

nach dem Keimgehalt des Bodens. Ist derselbe, wie in der Ackerkrume stets, sehr hoch, dann sind schon in $^1/_2$ g mehrere Millionen Bakterien enthalten, und diese Menge erfüllt dann in ausreichender Weise die Bedingungen für die richtige Gewinnung von Durchschnittszahlen bei Herstellung der Verdünnungen. Mit vollem Recht behaupten die Verff., daß der aus den einzelnen Plattenwerten berechnete Fehler nicht immer der des Endresultats zu sein brauche, da hier die Wahrscheinlichkeit für einen Ausgleich unter den vielen möglichen Fehlern spricht. Sie beweisen die Richtigkeit dieser Annahme durch mehrere Versuche. Eine große Reihe anderer, bei bakteriologischen Bodenuntersuchungen eine Rolle spielender Umstände wird des Weiteren besprochen, ihr Einfluß auf das Ergebnis kritisch beleuchtet und an entsprechenden Versuchen dargelegt. So wird vor allem die Forderung nach einer möglichst raschen Verarbeitung der hergestellten Verdünnungen experimentell begründet, da beim Stehen dieser Aufschwemmungen eine Verminderung der Bakterienzahl eintritt, die sich im wesentlichen auf ganz bestimmte Gruppen erstreckt. Die Verff. erklären diese Erscheinung durch den von A. Fischer zuerst hervorgehobenen Vorgang der Plasmoptyse. Sie gelangen unter Berücksichtigung der erwähnten Momente zu einem Verfahren zur Bestimmung der Zahl von Bodenbakterien, welches relativ richtige, untereinander vergleichbare Werte liefert, aber natürlich die sämtlichen unter den angegebenen Bedingungen auf Gelatine nicht wachsenden Arten unberücksichtigt läßt.

Für die Probenahme auf dem Felde war die Beobachtung von Wichtigkeit, „daß bei gleicher Bodenart und bei gleicher Behandlung des Bodens in ein und derselben Schicht zu einer bestimmten Zeit stets eine einheitliche Mikrobenflora vorgefunden wurde“.

Außer der Zahl der Bakterien wurde nun auch die Art derselben schon auf der Zählplatte bestimmt, wobei natürlich nur durch auffällige Merkmale sich unterscheidende große Gruppen abgegrenzt werden konnten. Die Verff. begnügten sich damit, verflüssigende, nicht verflüssigende und Streptothrix-Arten zu unterscheiden [1]).

1) Bei der Begründung dieser, im Hinblick auf das von den Verff. Beabsichtigte, vollkommen berechtigten groben Klassifikation wird der Wert von Laboratoriumsversuchen über das physiologische Verhalten von Reinkulturen bestimmter Arten einer wenig schmeichelhaften Kritik unterzogen, welche mir in solchem Umfange nicht gerechtfertigt erscheint. Gerade weil die Erforschung des physiologischen Verhaltens der Bodenbakterien, vor allem die Aufklärung ihrer Beziehungen zum Stickstoff, als eine der wichtigsten Aufgaben der Agrikulturbakteriologie anzusehen ist, messe ich dem möglichst vielseitigen und eingehenden Studium von Reinkulturen die größte Bedeutung bei und kann nicht zugeben, daß dieses Studium „praktisch irgendwie verwertbare Resultate nicht zeitigen wird“. Wenn beispielsweise die Verff. bei der Erklärung der Schwefelkohlenstoffwirkung auf das Pflanzenwachstum zu der Vermutung kommen, daß die stark vermehrten Bakterienarten entweder eine Aufschließung schon vorhandener Stickstoffverbindungen oder eine Stickstoffsammlung bewirken, so werden sie zu einer Entscheidung dieser gewiß bedeutungsvollen Frage nur durch das eingehende Studium des physiologischen Verhaltens von Reinkulturen der in Betracht kommenden Arten gelangen können. Natürlich hat bei Untersuchungen solcher Art der Vegetationsversuch die Laboratoriumsarbeit zu ergänzen, und Hiltner selbst hat diesen Weg bei seinen Arbeiten über die Knöllchenbakterien sehr oft und mit großem Erfolg beschritten. Ref.

Schließlich unternahmen die Verff. auch den Versuch, die Zahl der auf Gelatine nicht wachsenden Bodenbakterien zu bestimmen, zu welchen bekanntlich gerade die durch wichtige physiologische Eigenschaften, wie Stickstoffsammlung, Nitrifikation etc., sich auszeichnenden Arten gehören. Sie erreichten dies durch Kultivierung in flüssigen, elektiven Nährsubstraten bei gleichzeitiger stufenweiser Verdünnung. Es ergab sich so schließlich dasjenige Quantum Erde, welches mindestens noch einen Keim der betreffenden Art enthielt.

Mit dieser Untersuchungsmethode ausgerüstet, machten sich die Verff. an das Studium der Beeinflussung der Organismenflora des Bodens durch den Schwefelkohlenstoff und durch die Brache, also zweier Vorgänge, welche bekanntermaßen die Fruchtbarkeit der Ackerböden erhöhen.

Die auf Freilandparzellen ausgeführten, sich über fast 2 Jahre erstreckenden Versuche mit Schwefelkohlenstoff ergaben bezüglich der Keimzahl nach einem anfänglich durch die Giftwirkung des CS_2 bedingten Abfall — bei einem Versuche betrug derselbe innerhalb 32 Tagen 74,5 Proz. der Gesamtzahl — eine sehr stark in die Erscheinung tretende Vermehrung der Bodenbakterien, und zwar von etwa 9,5 bis auf 50 Millionen pro g Erde. Dieser Höhepunkt war schon etwa 1 Monat nach Verdunstung des CS_2 erreicht und es begann nun ein allmählicher, immer deutlicher hervortretender Rückgang der Bakterienzahl. Bei der unbehandelten Parzelle stellte sich die Keimzahl unter sonst möglichst ähnlichen Witterungs- und Feuchtigkeitsverhältnissen stets auf etwa 9,5 Millionen ein, und auch das Verhältnis der Arten untereinander blieb unter solchen Umständen ein annähernd konstantes, nämlich 20 Proz. Streptothrix-Arten, 75 Proz. nicht verflüssigende und 5 Proz. verflüssigende Bakterienarten. „Die Organismenwelt des Ackerbodens befindet sich unter normalen Verhältnissen in einem inneren Gleichgewichtszustande.“ Die Schwefelkohlenstoffbehandlung bedingt nun eine erhebliche Störung in dem Gleichgewicht der Arten, welche sich während des anfänglichen Stadiums der Schädigung in einer starken Verminderung der Streptothrix-Arten bemerkbar macht. Auch in der nun folgenden Periode des rapiden Anstieges der Bakterienzahl bleiben diese beträchtlich hinter der normalen Anzahl zurück. Die Vermehrung wird in erster Linie durch das starke Anwachsen der Gruppe der nicht verflüssigenden Bakterien bewirkt. Unter diesen sind es wiederum einige wenige Arten, welche eine besonders intensive Vermehrung erfahren. In der Zeit des Rückganges der Gesamtzahl der Organismen nimmt die absolute Zahl der Streptothrix-Arten allmählich wieder zu, es ist aber selbst nach 2 Jahren noch keine vollständige Rückkehr zu der ursprünglich vorhandenen Artenverteilung erfolgt.

Bezüglich der durch besondere physiologische Wirkungen sich auszeichnenden, nach der erwähnten Annäherungsmethode bestimmten Bakterienarten stellten die Verff. fest:

1) Die denitrifizierenden Arten, im Boden ursprünglich sehr zahlreich vorhanden, werden durch den CS_2 in der Periode der

Schädigung fast ganz vernichtet und vermögen sich selbst im Laufe von 2 Jahren nicht wieder zu regenerieren.

2) Die Pektinvergärer sind im (Dahlemer) Boden in etwa gleich hoher Zahl wie die denitrifizierenden Bakterien vorhanden und erleiden durch die CS_2-Behandlung, trotz anfänglicher Dezimierung in der Periode der Schädigung, keine fernere Einbuße.

In weiteren ausführlichen Erörterungen wird auf Grund der mitgeteilten Ergebnisse eine Erklärung für die CS_2-Wirkung zu geben gesucht. Durch die gesteigerte Bakterientätigkeit sollen größere Mengen Stickstoff durch Aufschließung oder Assimilation den Pflanzen zugänglich werden, die Vorgänge der Nitrifikation und der Denitrifikation verlaufen unter dem Einfluß des CS_2 in einer für das Pflanzenwachstum günstigen Weise, d. h. die erstere wird zur richtigen Zeit lebhaft eingeleitet, die letztere dauernd hintangehalten.

Von Interesse sind Beobachtungen, welche die Verff. im Anschluß an diese Versuche über das Verhalten von CS_2 zu den auf den Wurzeln und in den obersten Zellschichten derselben vegetierenden Bakterien, also zur eigentlichen Wurzelflora, machten. Auf einem erbsenmüden Boden, auf welchem zum 3. Mal angebaute Erbsen schlecht, zum 4. Mal bestellte auffallenderweise sehr gut und üppig gediehen, liefen nach Behandlung des Bodens mit CS_2 die Erbsen wiederum sehr schlecht auf und entwickelten sich zu kümmerlichen Pflanzen, dagegen gedieh Buchweizen auf dem gleichen Boden nach der CS_2-Behandlung besser als vorher und ergab eine höhere Ernte. Erklärt wird diese auffallende Erscheinung dadurch, daß sich bei mehrmaligem Anbau von Erbsen in dem gleichen Boden „Schutzorganismen" gebildet hatten, welche die oberen Zellschichten der Wurzeln bewohnen und diese vor dem Befall durch pflanzliche Organismen schützen. Der CS_2 schädigt nun gerade diese Schutzorganismen besonders stark. Weitere Untersuchungen über diese Frage werden in Aussicht gestellt.

Die bakteriologischen Untersuchungen über die Brache wurden auf der Domäne Amt Grimnitz in der Uckermark ausgeführt und erstreckten sich auf eine vollständig unbehandelte und unbeweidete Parzelle (I), auf eine ohne Stallmistdüngung gebrachte (II) und auf eine mit 130—140 Zentner Stallmist pro Morgen gedüngte gebrachte Parzelle (III). Eine Ende August vorgenommene Untersuchung von Parzelle I und II ergab das interessante Resultat, „daß in dem gebrachten Felde, bei vollem Vorhandensein einer ausgezeichneten Gare des Bodens, nicht eine Zunahme, sondern eine Abnahme der auf Gelatine gedeihenden Bodenorganismen stattgefunden hatte." In gutem Einvernehmen hiermit steht das am 18. Oktober gewonnene Ergebnis, welches sich wieder auf Parzelle I und die im September mit Winterweizen bestellte Parzelle II bezieht. Die Bakterienzahl der gebrachten Parzelle war um 50 Proz. im Vergleich mit dem Ausgangswerte, um 38 Proz. im Vergleich zu der Bakterienmenge des unbehandelten Bodens zurückgegangen. Bedingt wurde diese Verminderung

fast ausschließlich durch den Rückgang der nicht verflüssigenden Arten, sehr wenig hatten dagegen die Streptothrix-Arten und gar nicht die verflüssigenden Bakterien abgenommen.

Bei der Stallmistparzelle machte sich eine Verminderung der Gesamtzahl der Bakterien nicht bemerkbar, jedoch hatten die Streptothrix-Arten eine starke Zunahme erfahren, die nicht verflüssigenden Arten hatten einen Abfall zu verzeichnen, die verflüssigenden waren in ihrer Menge ziemlich konstant geblieben.

Im Februar, Juni und August des folgenden Jahres wurde die bakteriologische Untersuchung der 3 Parzellen wiederholt. Es ergab sich:

1) Auch im Jahre nach der Brache ist die Gesamtzahl der auf Gelatine wachsenden Bodenorganismen in der gebrachten Erde bedeutend niedriger als in dem gleichen, völlig unbehandelt gebliebenen Boden.

2) Die Verminderung betrifft in erster Linie die nicht verflüssigenden Bakterien, in zweiter Linie die Streptothrix-Arten. Völlig unverändert dagegen haben sich der Zahl nach die verflüssigenden Mikroben erhalten."

Das Gesamtergebnis der Bracheuntersuchungen steht demnach im Widerspruch mit der von Caron konstatierten starken Vermehrung der Bodenbakterien, besonders der verflüssigenden Arten in gebrachtem Boden. Eine Erklärung für diese Differenz glauben die Verff. in dem Umstande zu finden, daß auf dem Caronschen Gute das Unkraut während der Schwarzbrache periodisch untergepflügt wird, wodurch ähnlich, wie nach Stallmistdüngung, die Zahl der auf Gelatine wachsenden Bakterien sich bedeutend vermehren kann.

Die angeführten Resultate scheinen nicht im Einklang zu stehen mit der Auffassung, daß der Zustand der Bodengare in erster Linie durch Bakterientätigkeit bewirkt wird. Die Verff. sprechen jedoch am Schlusse ihrer Arbeit die Vermutung aus, „daß die gelatinewüchsigen Bakterien zurückgedrängt werden durch die Entwickelung einer besonderen Art oder Gruppe von Organismen, die auf Gelatine nicht gedeihen, auf deren Wirkung aber hauptsächlich die günstigen Folgen der Brache zurückzuführen sind."

Vogel (Posen).

v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie. I. Mitteilung. (Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, math.-naturw. Klasse. Abt. I. Bd. CXI. p. 987—1056. Wien 1902.

Kritische Untersuchungen über neue oder schon bekannte Pilze aus verschiedenen Familien. Neu werden folgende **Genera** aufgestellt: 1) Neorehmia nov. gen. Pyrenomycetum (mit den Perisporiaceen durch die meist mündungslosen, oberflächlichen Perithecien zusammenhängend, mit den Hypocreaceen durch die fast fleischige Beschaffenheit und in der Jugend hellen Färbung der Perithecien und durch die Sporenform, mit den Trichosphäriaceen durch die Haarbildungen der oberflächlichen Perithecien und durch das manchmal deutliche Ostiolum; vorläufig am zweckmäßigsten bei den Perisporiaceen untergebracht; mit 1 Art: Neorehmia ceratophora n. sp. bei Preßbaum in Niederösterreich, auf faulem Holze); 2) Pirobasidium nov. gen. Hyalostilbearum (est status conidiophorus Corynes Bulgariacearum; Pirobasidium sar-

coides (Jacqu.) von Höhnel als status conidiophorus Corynes sarcoidis [Jacqu.]); 3) Trichocollonema nov. gen. Sphaeropsidearum (est Collonema piligera cum sporulis septatis, coloratis; von Trichoseptoria durch die oberflächlichen Pykniden und die lang-spindelförmigen Sporen, von Collonema durch die Behaarung der Gehäuse, die Septierung und Färbung der Sporen, von Septorella auch durch die behaarten Pykniden verschieden; mit 1 Art: Trichocollonema Acrotheca n. sp. auf Tannenrinde bei Purkersdorf nächst Wien); 4) Pseudozythia nov. gen. Nectrioidearum (den Gattungen Ollula und Cyphina nahestehend aber nicht verwandt; das Gehäuse besteht aus mehreren Lagen paralleler Hyphen und geht am Rande in Cilien aus, die Sporenträger sind im unteren Teile lang verzweigt, fädig und tragen seitlich die fast spindelförmigen hyalinen Sporen; mit 1 Art: Pseudozythia pusilla nov. sp. auf vermodertem Holze bei Purkersdorf); 5) Rhynchonectria nov. gen. Nectriacearum mit 1 Art: Rhynchonectria longispora (Phill. et Plowr.) von Höhnel = Eleutheromyces longisporus Phill. et Plowr.; 6) Septotrullula nov. gen. Melanconiarum (eine Trullula aus der Sektion Cesatia mit braunen und septierten Konidien, mit 2 Arten: Septotrullula bacilligera nov. sp. auf Rinde nächst Purkersdorf) und Septotrullula peridemalis n. sp. (auf Rinde beim Reckawinkel nächst Wien); 7) Helicostilbe nov. gen. Phaeostilbearum (die Sporen sind dieselben wie die von Helicomyces und Helicosporium, die farblosen Fruchthyphen bilden jedoch im Verein mit braunen, steifen und sterilen Stützhyphen zotten- oder stachelartige Fruchtkörper, die auf einer Art dünnen Subiculums ähnlich den Odontia-Arten aufsitzen; mit 1 Art: Helicostilbe scandens [Morgan] von Höhnel sub Helicomyces in North Americ. Helicosp. p. 45. Fig. 5 [= Helicostilbe helicina n. sp. in vorliegender Abhandlung] auf vermodertem Carpinus-Holz in Finstergraben bei Gießhübel im Wienerwald; vielleicht gehört Helicosporium ambiens [Morgan] Sacc. [sowie einige andere] zu dieser neuen Gattung); 8) Collodochium nov. gen. Tuberculariacearum (differt a Dendrodochio sporis catenulatis mucedine omnino involutis, mit 1 Art: Collodochium atroviolaceum nov. spec. auf faulem Holze bei Purkersdorf); 9) Gloiosphaera nov. gen. Mucedinearum (eine scharf begrenzte Mucedinaceae-Hyalosporae, zu den Verticillieae gehörig, der Gattung Harziella C. et M. noch am nächsten stehend, mit 1 Art: Gloiosphaera Clerciana [Boudrier] von Höhnel sub Scopularia in Bullet. de la soc. bot. de France 1901 [= Gloiosphaera globuligera nov. spec. in vorliegender Arbeit]; 10) Diplorhinotrichum nov. gen. Mucedinearum (est Rhinotrichum conidiis didymis, mit 1 Art: Diplorhinotrichum candidum nov. sp. auf faulem Holze bei Purkersdorf); 11) Pedilospora nov. gen. Mucedinearum (eine Mucedineae-Staurosporae, die ganz hyalin ist; an den Eintrittsstellen bilden sich Büschel, an welchen die Konidien sehr vereinzelt akrogen entstehen; Konidien symmetrisch gebaut, fünfzellig, die basale Mittelzelle ist verkehrt kegelförmig und sitzt mit dem spitzen unteren Ende dem Sporenträger auf, die oben stumpfe Fläche trägt zwei längliche Lappen, die parallel nebeneinanderliegen und aus je zwei Zellen übereinander bestehen, mit 1 Art: Pedilospora parasitans nov sp. auf Helotium-Fruchtkörpern bei Hadersdorf nächst Wien lebend); 12) Gliobotrys nov. gen. Dematiarum (est Stachybotrys hyphis hyalinis et conidiis mucedine obvolutis, mit 1 Art: Gliobotrys alboviridis nov sp. auf faulem Holze von Acer Pseudoplatanus bei Kaumberg in Niederösterreich).

Außerdem werden als **neu** folgende Arten beschrieben:

1) Anixia Bresadolae von Höhnel (beschrieben wird der Fungus ascophorus und der Fungus conidiophorus, letzerer als Acrothecium Anixiae nov. sp., auf faulem Eichenholze bei Purkersdorf); 2) Anixia myriasca nov. sp. (an nov. genus Anixiella ?) auf dem Schneeberge in Niederösterreich bei 1800 m Höhe, Asci ohne Paraphysen. Die Gattung könnte je nach dem Fehlen oder Vorkommen der Paraphysen in zwei Subgenera gegliedert werden: I. Subgenus: Euanixia (Asci paraphysati) und II. Subgenus: Anixiella (Asci aparaphysati); 3) Nectria tricolor n. sp. (aus der Sektion Lepidonectriae, durch die schöne Färbung und die großen Zellen der Perithecienwandung ausgezeichnet, auf faulem Tannenholz bei Preßbaum in Niederösterreich); 4) Didymosphaeria Stellariae n. sp. (Perithecien

zumeist auf den Blattnerven aufsitzend, relativ große Sporen, durch letzere und die große Zartheit des Gehäuses von Arten der Gattung Apiospora und Stigmatea unterschieden; auf Blättern der Stellaria nemorum bei Westendorf in Tirol); 5) Mycosphaerella hypostomatica n. sp. (Perithecien nur unter den Spaltöffnungen der Blattunterseiten von lebenden Luzula-Blättern auftretend; im Mauerbachtale im Wienerwalde); 6) Ophiobolus carneus n. sp. (zu den Ramicolae im Sinne von Berlese gehörig, von Ophiobolus surculorum Pass dadurch verschieden, daß der erstere auf naktem Holze von Staphylea pinnata, letzterer aber unter der Oberhaut der Rinde wächst und farblose Sporen hat; im Wienerwalde); 7) Hystriopsis laricina n. sp. (auf Zweigen der Larix europaea bei Welsberg in Tirol und bei Spital in Obersteiermark; die Ascomata kommen an frischen Zweigen vor; von Gloniopsis larigna Faut. et Lamb. ganz verschieden), 8) Phragmonaevia (Naeviella) ebulicola n. sp. (in surculis Sambuci Ebuli prope Pernitz Austriae inferioris); 9) Dasyscypha Heimerlii n. sp. (an schwarzen Stellen von angefaultem Carpinus-Holze bei Preßbaum in Niederösterreich, steht am nächsten der Dasyscypha nectrioidea Rehm.); 10) Humaria subsemiimmersa n. sp. (differt a Humaria semiimmersa sporidiis verruculosis et paraphysis superne non incrassatis sed involutis; ad terram nudam in ditione Puchberg prope montem Schneeberg Austriae inferioris); 11) Hypochnus chaetophorus n. sp. (Borsten steif und lang, von Hymenochäte durch den ganz lockeren, dünnen, keine feste zusammenhängende Haut bildenden Fruchtkörper unterschieden; auf faulem Lärchenholz beim Schneeberge in Niederösterreich); 12) Pluteus roseipes n. sp. (Stiel schön rosarot, ohne Bereifung oder Bekleidung, eine terrestre Art, am Puchberge bei Schneeberg gefunden); 13) Macrophoma Ariae n. sp. (zu Abteilung der Eu-Macrophoma gehörig, längere und breitere Sporen als alle anderen Arten; Schneeberg in Niederösterreich); 14) Dendrophoma fusipora n. sp. (durch die Sporen von allen anderen verschieden, auf Rinde von Prunus Padus beim Semmering in Obersteiermark); 15) Phleospora parcissima n. sp. (keine Spur eines Gehäuses, verursacht Flecken auf der Roßkastanie, bei Baden nächst Wien); 16) Phleospora Angelicae n. sp. (echter Parasit auf Angelica sylvestris, Sporen stäbchenförmig, ganz gerade, cylindrisch, an beiden Enden quer abgeschnitten; Weidlingau bei Wien); 17) Zythia albo-olivacea n. sp. (durch die Farbe von allen anderen Arten verschieden; auf faulem Carpinus-Holze bei Gießhübel im Wienerwalde); 18) Libertiella lignicola n. sp. (auf faulem Buchenholze bei Purkersdorf); 19) Sphaeronemella microsperma n. sp. (am nächsten mit Sphaeronemella acicularis [Fr.] Sacc. verwandt; auf faulem Birkenholze bei Aspang in Niederösterreich); 20) Pseudodiplodia Lonicerae n. sp. (auf Zweigen von Lonicera tatarica im Wiener Prater); 21) Rhynchomyces exilis n. sp. (vielleicht eine neue Gattung; Rhynchomyces Marchalii Sacc. ist von dieser Art durch die zweizelligen, an der Basis in eine spitze Borste allmählich verschmälerten Sporen verschieden; auf nacktem Kieferholze in Wien); 22) Leptothyrium Genistae n. sp. (in ramulis vel spinis Genistae hispanicae in Montventoux Galliae); 23) Dothichiza Coronillae n. sp. (die größten Sporen besitzende Art; in ramulis hornotinis siccis Coronillae Emeri prope Bozen); 24) Septogloeum Tremulae n. sp. (Septogloeo salicino Peck proximum, sed conidiis longioribus pluriseptatis diversum; in Populi tremulae cortice ramulisque prope Hadersdorf apud Vindobonam); 25) Volutella florida n. sp. (auf einer toten Wespe in Wien; zu Eu-Volutella gehörig); 26) Epidochium Xylariae n. sp. (ein Eu-Epidochium, parasitisch auf dem Stroma von Xylaria polymorpha am Schneeberge, ohne den Wirt zu beeinträchtigen); 27) Bactridium caesium n. sp. (dem Bactridium candidum K. et S. nahe stehend, auf fauler Rinde von Erlen und Buchen bei Purkersdorf); 28) Exosporium biformatum n. sp. (auf halbfaulem Buchenholze in zweierlei Formen auftretend; bei Purkersdorf); 29) Aspergillus citrisporus n. sp. (auf Raupenkot mit charakteristischen Konidien; Haltertal bei Wien); 30) Botrytis (Cristularia) pruinosa n. sp. (kleinste Art, auf Holz und Rinde an zwei Lokalitäten des Wienerwaldes); 31) Clonostachys Pseudobotrytis n. sp. (durch die kurzen Konidienarten der Formengattung Botrytis Sect. Phymatotrichum nahe stehend; in culturis e vegetabilibus putridis formatis in laboratio Vindobonae); 32) Ramularia submodesta n. sp. (vielleicht eine Form der Ramularia modesta Sacc.; auf lebenden Blättern von Agrimonia Eupatoria, bei Hadersdorf nächst

Wien); 33) Ramularia Cardui Personatae n. sp. (durch die kleineren, beiderseits schief zugespitzten Konidien sicher von Ramularia Cardui Karst. var. Personatae Allesch. verschieden; bei Turnau in Obersteiermark auf lebenden Blättern der Wirtspflanze); 34) Blastotrichum elegans n. sp. (sehr große, scharf septierte Sporen; in culturis e stramine putrido formatis in laboratio autoris in Vindobona); 35) Cercosporella ulmicola n. sp. (unscheinbare Art, auf lebenden Blättern von Ulmus bei Weidlingau nächst Wien); 36) Mesobotrys flavovirens sp. nov. (in ligno putrido prope Purkersdorf); 37) Chalara aeruginosa n. sp. (ad fructus putrescentes Gleditschiae triacanthi in loco Prater Vindobonae); 38) Chalara sanguinea sp. n. (ebenda in Gesellschaft der vorigen Art); 39) Cercospora Isopyri n. sp. (bringt ganze Organe, z. B. Stengel, Blätter von Isopyrum thalictroides zum Absterben, die Fruchthyphen treten nicht durch die Spaltöffnungen heraus, sondern durchbrechen die Epidermis; Purkersdorf). — Spegazzinia calyptrospora n. sp. hat Spegazzinia lobata (Berk. et B.) von Höhnel sub Sporodosmium in Annales of nat. hist. 1866 No. 1146 zu heißen (auf Pinus silvestris-Holz bei Rossatz in Niederösterreich).

Aeußerst kritische Bemerkungen und Erläuterungen erfahren besonders: 1) Die auf Luzula- und Juncus-Arten lebenden Mycosphaerella-Arten; 2) Gloniopsis larigna Lamb. et Faut.; 3) Coryne sarcoides (Jacqu.); 4) Hyalopeziza ciliata Fuckel (muß neben der Gattung Dasyscypha bei den Trichopezizeae stehen); 5) Peziza Antonii Roumeguère, 6) die blutrote Fäule der Laubhölzer (sie wurde vom Verfasser im Wienerwalde häufig beobachtet und die Untersuchung ergab, daß die Ursache ein Pilz ist, den Fuckel als Tapesia atrosanguinea bezeichnete, der aber Phialea atro-sanguinea [Fuckel] von Höhnel zu heißen hat); 7) Odontia subtilis Fr. (Drüsenorgane sieht man nur am frischen Pilze; vielleicht besitzen noch andere Odontia- oder Hydnum-Arten solche Drüsenorgane, die aber nur an frischem Materiale zu konstatieren sind und konstatiert werden sollen); 8) Fusicoccum macrosporium Sacc. et Briard und Asterosporium Hoffmanni Kze. (beide kommen stets vergesellschaftet vor und gehören in denselben Entwickelungskreis; ersterer wird vom Verf. für den Askomyceten gehalten, bei welchem allerdings der ganze Ascus als Spore abgegliedert wird. Es ist sehr wahrscheinlich, daß noch andere Fusicoccum-, Sphaeropsis- etc.-Arten reduzierte Askomyceten sind, daß zu Asterosporium auch ein eigentümlicher Askomycet gehören dürfte, z. B. das obige Fusicoccum. Asterosporium Hoffmanni hat ebenfalls einen recht häufigen Begleiter in Scolecosporium Fagi Lib.); 9) Gattung Zythia (Zythia maxima Fautrey ist Neottispora Caricum Desm. und Zythia Rhinanthi (Lib.) ist identisch mit Phoma deusta Fuckel. Doassansia Rhinanthi Lagerheim in Sydow, Mycoth. marchica No. 4306 dürfte ein Jugend- und zurückgebliebenes Stadium der Pyrenopeziza Rhinanthi Karsten sein); 10) Pseudodiplodia (Pseudodiplodia corticola Grove ist eher eine Pseudopatella; es empfiehlt sich nicht diese Gattung von der Gattung Diplodia zu trennen); 11) Eleutheromyces subulatus (Tode) [die Untersuchung ergab, daß der Pilz kein Askomycet ist, sondern neben Sphaeronemella (Nectroideae) zu stehen hat. Eleutheromyces longisporus Phill. et Plowr. ist sicher ein Askomycet]; 12) Ceratocladium microsporium Corda

(gehört zu den Phaeostilbeae im Systeme Saccardos; auf Eichen- und Rotbuchenrinde fand ihn Verfasser um Wien häufig auch in beiden Formen; zweierlei Hyphen zeigt er: die einen sind starr, dick und stellen das mechanische Element vor [Traghyphen], die anderen sind sehr zart und hyalin [Fruchthyphen]. Letztere wachsen empor und bilden dann den schleierförmigen Ueberzug); 13) Collodochium und Stellung dieser Gattung im Systeme; 14) Cryptocoryneum fasciculatum Fuckel und Speira toruloides Corda (zwischen Cryptocoryneum und Exosporium besteht kein wesentlicher Unterschied; ersteres Genus hat zu entfallen; der Fuckelsche Pilz ist ein Exosporium und wurde von Corda in Icones fungorum I. p. 9. Fig. 139 als Torula hysterioides schon beschrieben. Es hat also der Pilz zu heißen Exosporium hysterioides [Corda] von Höhnel und er wird oft mit Speira toruloides Corda verwechselt, welche Verf. neuerdings im Wienerwalde fand und genau beschreibt. Auch Hymenopodium sarcopodioides Corda ist ein echtes Exosporium und hat den Namen E. sarcopodioides [Corda] von Höhnel zu führen); 15) Clonostachys und ihre Uebersicht auf Grund der Konidienbeschaffenheit; 16) Gliocephalis hyalina Matruchot (ist das Conidiumstadium der Zygomycetengattung Syncephalis; die Matruchotsche Gattung Gliocephalis muß entfallen und seine Art hat Syncephalis hyalina [Mat.] Höhnel vorläufig zu lauten); 17) Ramularia Lampsanae (Desm.) Sacc. (Verf. fand gegen den Herbst zu sklerotiumartige bis 50 μ große Körper an vegetativen Hyphen im Blattparenchym der Wirtspflanze; im Sommer fehlten sie; Kulturversuche wären sehr lohnend); 18) die Ramularien der europäischen Borragineen (Ramularia Anchusae Mass. ist mit R. Anchusae officinalis Eliasson identisch; Ramularia [Ovularia] farinosa [Bon.] dürfte nur auf Symphytum vorkommen; Ramularia cylindroides Sacc. kommt nur auf Pulmonaria-Species vor, von allen Arten unterscheidet sie sich dadurch, daß die Räschen niemals durch die Spaltöffnungen austreten und wegen des vegetativen Verhaltens verdient diese Art in eine neu zu gründende Gattung eingereiht zu werden); 19) Gliederung der Gattung Chalara in 3 Subgenera (Euchalara, Endochalara, Synchalara); 20) Gattung Cercospora (bei einer natürlichen Gliederung wäre zu berücksichtigen, ob die Fruchthyphen durch die Spaltöffnungen oder durch die Cuticula hervorbrechen), 21) Spegazzinia und Epicoccum (viele der 40 Arten der letzeren Gattung haben septierte Sporen und müssen aus derselben ausgeschieden werden und gehören zu Thyrococcum Sacc.; ein näheres Studium der Gattung Epicoccum ist nötig).

Bezüglich der Synonymik ist außerdem folgendes zu erwähnen:

1) Stagonospora Typhoidearum Desm. = Ascochita Typhoidearum (Desm.) von Höhnel.

2) Stagonospora innumerosa (Desm.) forma Junci Bufonii F. Fautrey = Stagonospora Bufonia Bresad. 1896.

3) Gloniopsis larigna Lamb. et Fautrey = Hysteropsis larigna (Lamb. et F.) von Höhnel.

4) Pezia (Humaria) Antonii (Roumeg.) Rehm = Ascophanus testaceus (Moug.).

Die Diagnosen der neuen Genera, Arten, aber auch die ergänzenden Diagnosen von Arten sind lateinisch verfaßt.

Mit großer Spannung erwarten wir die II. Mitteilung.

Matouschek (Reichenberg in Böhmen).

Meißner, Ernst, Accommodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze. (Inaug.-Diss. 8°. 95 S. Leipzig 1903.)

Die Grenzkonzentrationen für das Wachstum der zur Untersuchung gelangten Pilze, Aspergillus niger, Mucor stolonifer und Penicillium glaucum, liegen ohne angestellte Accommodationsversuche auf den hier in Frage kommenden Giftlösungen für Aspergillus ziemlich hoch, für die beiden letzteren meist bedeutend tiefer, als beim erstgenannten. Sowohl die Entwickelung der drei Pilze auf gleicher Giftlösung als auch der einzelnen Species auf den verschiedenen Konzentrationen beginnt in meisten Fällen nicht gleichzeitig, ebenso ist ein weiterer Unterschied auch beim ferneren Wachstum zu beobachten. Aspergillus, Mucor und Penicillium besitzen also verschiedene Empfindlichkeit gegen ein bestimmtes Gift; desgleichen ist das Wachstum der einzelnen Species nie oder nur in äußerst seltenen Fällen ein gleiches zu nennen.

Die Kontrollkulturen zeigen erfahrungsgemäß nicht immer vollkommen genaue Uebereinstimmung in der Entwickelung, da die Faktoren für letztere kaum gleichwertig zu machen sind, indessen ist die Differenz der Resultate äußerst gering.

Auffallend verschieden ist die Empfindlichkeit der einzelnen Species gegen Chinin, groß die Widerstandsfähigkeit gegen Morphium und Strychnin, auf deren gesättigten Lösungen die Sporen noch keimen. Während Aspergillus auf 5 Proz. Chinin fruktifiziert, töten bereits 2,5 Proz. sowohl die Sporen von Mucor als auch jene von Penicillium.

Phenol wie Salicylsäure sind heftige Gifte für alle drei Pilze. Eine wesentliche Differenz in der Resistenz gegen Pyrogallussäure zeigt Aspergillus gegenüber den beiden anderen Schimmelpilzen; ersterer kann verhältnismäßig bedeutende Mengen dieses Stoffes vertragen, Mucor und Penicillium fruktifizieren bereits in einer Lösung von 0,55 Proz. nicht mehr.

Auffällig gering ist die Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol. Sehr giftig wirkt Amylalkohol auf Aspergillus, stärker auf Mucor, noch mehr auf Penicillium ein.

Fluornatrium hemmt Aspergillus in der Fruktifikation, Mucor wie Penicillium fruktifizieren noch auf der 10-fachen Konzentration indessen tötet erst eine verhältnismäßig große Dosis auch ihre Sporen.

Schimmelpilze können in den meisten Fällen, indem sich der Organismus nach und nach an den Charakter eines Giftes zu gewöhnen vermag, durch zweckentsprechende Anpassung die entwickelungshemmenden Einflüsse der Gifte überwinden und somit den

Grad der Wirkung der einzelnen Stoffe teils mehr, teils weniger herabdrücken.

Die Pilze sind in verschiedenem Maße accommodationsfähig, in ganz bedeutendem Maße Penicillium glaucum, ihm folgt Mucor stolonifer und an dritter Stelle Aspergillus niger.

Die Folgen der Anpassung zeigen sich einesteils durch die von den Pilzen zu vertragenden größeren Giftmengen, andererseits durch die Verkürzung der Zeiträume bis zur Erreichung der einzelnen Phasen.

Infolge der Accommodationsfähigkeit der Schimmelpilze an Gifte sind ihre Wachstumsgrenzen in derartigen Lösungen nie feststehende, sondern bedingte. Sie lassen sich nicht selten bedeutend erweitern, und zwar ist diese Erweiterung von der Art des eingeschlagenen Weges abhängig.

Günstig ist die Wirkung der Anpassung durch stufenweises Erhöhen der Konzentration von Generation zu Generation. Noch weiter kommt man bei wiederholtem Kultivieren der Pilze auf gleicher Giftstufe, darauf folgender Erhöhung der Konzentration und öfterem Wiederholen der Prozedur. Die Resistenz der Schimmelpilze auch gegen die hier in Frage kommenden Gifte nimmt also mit der wachsenden Zahl der Generationen zu.

Je höher die Konzentration hinauf getrieben wird, desto mehr vermindert sich die Adaptionsfähigkeit, bis sie schließlich gänzlich aufhört; es verlangsamt sich infolgedessen das Wachstum der Schimmelpilze in um so größerem Maße, je mehr die Konzentration sich dem Maximum nähert.

Daß bei der zweiten Art der Accommodation die Resistenz der Pilze durch eine außerordentliche Vermehrung der Anzahl der Generationen auf einer Giftstufe, wenn auch nicht viel, so doch um ein geringes zu erhöhen ist, kann als zweifellos angenommen werden.

In Alkohol, welcher sich bei dem ersten Accommodationsverfahren als ein relativ stark entwickelungshemmendes Medium erwiesen hatte, machte sich bei der Züchtung mehrerer aufeinander folgenden Generationen auf hoher Giftstufe die Anpassungsfähigkeit der Pilze an höhere Konzentrationen, ganz besonders bei Penicillium glaucum bemerkbar. Immerhin ist ein Wachstum der Schimmelpilze nach Angaben von Manasseïn auf noch höherer Konzentration zu erwarten.

Die Resistenz der Mucor- und Penicillium-Sporen von giftfreier Kultur gegen Amylalkohol ist gemäß den Erfahrungen eine gleiche zu nennen, das Anpassungsvermögen der beiden Pilze ist indessen recht verschieden, indem hier, wie in manchen anderen Fällen, dem Penicillium meist die größte Accommodationsfähigkeit zukommt.

Es kann aber aus den Erläuterungen nicht allgemein geschlossen werden, daß allen Pilzen die für die hier zur Untersuchung gekommenen Species gemeinsamen Eigenschaften zukommen, indessen ist die Tatsache bewiesen, daß sich Pilze an organische Giftstoffe anzupassen vermögen. E. Roth (Halle a. S.).

Orlowski, S. F., Ueber die Wirkung des Arsens auf das Wachstum und die chemische Zusammensetzung von Aspergillus niger. Petersb. Dissertation, 1902. [Russisch.]

Kleine Dosen Arsen stimulieren, größere hemmen, starke vernichten das Wachstum. Die Sporen von auf arsenhaltigem Nährboden gezüchteten Aspergillus niger scheinen nach den Untersuchungen Orlowskis eine Immunität gegen Arsen zu erlangen, da sie bei einem Arsengehalt auskeimen, bei welchem Kontrollkulturen rasch absterben. Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Sydow, H. und **P.**, Die Mikrosporen von Anthoceros dichotomus Raddi, Tilletia abscondita Syd. nov. spec. (Annales Mycol. Vol. I. 1903. p. 174—176.)

Die bisher nur bei der Gattung Sphagnum in den kleinen Mooskapseln gefundenen sogenannten Mikrosporen wurden von Nawaschin zuerst als pilzliche Gebilde erkannt und von ihm unter dem Namen Tilletia Sphagni beschrieben. Auf lehmigem Boden im Königl. Garten „Monrepos" zu Corfu wurden jedoch Exemplare von Anthoceros dichotomus aufgefunden, welche sich ebenfalls durch das Vorkommen sog. Mikrosporen auszeichneten. Eine vergleichende Untersuchung beider Mikrosporenformen ergab, daß diejenigen von Anthoceros größer (11—20 μ lang) sind als diejenigen des Sphagnum, welche nur 11—12 μ im Diameter erreichen. Wir müssen annehmen, daß die Anthoceros-Mikrosporen ebenfalls einer Ustilaginee angehören, für welche der Name Tilletia abscondita vorgeschlagen wird.

H. Sydow (Berlin).

Laubert, R., Ascochyta caulicola, ein neuer Krankheitserreger des Steinklees. (Arbeiten a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstw. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. III. Heft 4. p. 441.)

Der vom Verf. erstmalig beobachtete und benannte, zu den Fungi imperfecti gehörende Pilz trat im Frühjahr 1902 auf dem Versuchsfelde in Dahlem an Stengeln und Blattstielen von Melilotus albus auf, erzeugte hier Rindenhypertrophien und hatte an den befallenen Teilen mangelhafte oder fehlende Blattentwickelung, stellenweise auch Verkrümmung der Stengel zur Folge. Makroskopisch fallen an den erkrankten Pflanzen zahlreiche weiße, verschieden große, scharf konturierte und braun umsäumte Flecken an Stengel und Blattstielen auf. Von Fruchtkörpern ließen sich nur Pikniden auffinden, die als äußerst kleine, isolierte, schwärzliche Pünktchen in großer Menge auf den weißen Flecken saßen.

Beck (Tharandt).

Rosendahl, C. O., An new species of Razoumofskya Minnesota. (Botanical Studies. 3. Series. Part II. 1903. Vol. XXII. p. 271—273 mit 2 Taf. Abb.)

Während Razoumofskya occidentalis (Engelmann) Kuntze, Arceuthobium occidentale Engelmann auf Pinus insignis P. sabiniana, P. ponderosa, Abies grandis wächst, fand Verf. 1901 und 1902 an der Westküste von Vancouver Island eine neue Art, die nur auf Tsuga heterophylla Sarg. schmarotzt (die mit Tsuga gemeinschaftlich vorkommenden Koniferen Abies grandis, A. amabilis, Pinus monticola, P. contorta etc. wurden nicht befallen). Die Schmarotzerpflanze verursacht an den Arten der Hemlocktanne hexenbesenähnliche Bildungen.

Die Diagnose der neuen Art lautet folgendermaßen:

Razoumofskya tsugensis sp. nov.

Stems slender, paniculately branched; terminal branches of the staminate plants often apparently dichotomous: stem 1,5 mm in diameter at the base: staminate plants 3—11 cm. high, brownish-yellow in color: flowers 1—13, sessile in the axils of the connate leaves of the branches forming spicate inflorescences 4—24 mm long: internodes of the flowering branches 2,5—3,5 mm long: calyx 4-partid; lobes ovate, acute, thick: anthers sessile and attached about the middle of the calux lobes: buds of the lateral flowers slightlyflattened dorsiventrally, the terminal ones globose: expanded flower 3,5—4 mm in diameter. — Pistillate plants 4—12 cm high: generally darker in colour than the staminate: flowers borne as in the staminate plants: branches flower-bearing for the last 1—6 nodes: internodes 3,5—5 mm long: flowers nearly sessile, partly enclosed by the connate leaves: fruit 4—5 mm long, 2,5—3 mm in diameter, obovate, short conic-beaked, slightly crompressed dorsi-ventrally, at lenght becoming shortly stalked and reflexed.

Ludwig (Greiz).

Abbado, M., Monografia dei generi Allescherina e Cryptovalsa. (Malpighia. Vol. XVI. 1901. p. 291—303.)

Nach allgemeinen und geschichtlichen Bemerkungen behandelt Verf. eingehend die zu den beiden genannten Gattungen gehörenden Arten. Zu der neuen Gattung Allescherina Berl. werden diejenigen Arten der Gattung Cryptovalsa gestellt, deren Perithecien nicht in die charakteristischen, schön valsaartigen Stromata angeordnet sind, sondern mehr zerstreut stehen.

Zu jeder Art wird eine genaue lateinische Diagnose gegeben mit Angabe der Synonymie, ferner kritische Bemerkungen etc.

Zu Allescherina gehören:

A. Clematidis (Br. et Har.) Berl. (syn. Cryptovalsa Clematidis Br. et Har.) auf Clematis-Stengeln.

A. tenella (Sacc.) Berl. (syn. Cr. tenella Sacc.) auf Acacia-Zweigen.

A. sparsa (Ell. et Ev.) Berl. (syn. Cr. sparsa Ell. et Ev.) auf Quercus-Zweigen.

A. deusta (Ell. et Mart.) Berl. (syn. Diatrypella deusta Ell. et Mart.) auf Blattstielen von Sabal serrulata.

A. Terebinthi (Ces.) Berl. (syn. Cr. Terebinthi) auf Zweigen von Pistacia Terebinthus.

A. effusa (Fuck.) Berl. (syn. Cr. effusa Fuck.) anf Zweigen von Rosa canina.

A. Rubi (Pass. et Beltr.) Berl. (syn. Cr. Rubi Pass. et Beltr.) auf Rubus-Ranken.

A. eutypaeformis (Sacc.) Berl. (syn. Cr. eutypaeformis Sacc.) auf Acer-Holz.

A. (?) crotonicola (Rehm) Berl. (syn. Cr. crotonicola Rehm) auf Zweigen von Croton.

Zu Cryptovalsa gehören:

C. exigua (Wint.) Berl. (syn. Diatrypella exigua Wint.) auf Salix-Zweigen.

C. Sassafras (Ell. et Ev.) Berl. (syn. Diatrypella Sassafras Ell. et Ev.) auf Zweigen von Laurus Sassafras.

C. prominens (Howe) Berl. (syn. Diatrypella prominens Howe) auf Zweigen von Lonicera japonica.

C. microsperma (Sacc.) Berl. (syn. Diatrypella microsperma Sacc.) auf Holz.

C. protracta (Pers.) Ces. et de Not. (syn. Cr. ampelina Fuck., Cr. Nitschkei Fuck.) auf Zweigen vieler Laubbäume.
C. depressa (Fr.) Sacc. auf Carpinus-Zweigen.
C. pustulata Ell. et Ev. auf Zweigen von Lonicera und Symphoricarpus vulgaris.
C. uberrima (Tul.) Sacc. auf Lindenästen.
C. platensis Speg. auf Salix-Zweigen.
C. citricola (Ell. et Ev.) Berl. (syn. Diatrypella citricola Ell. et Ev.) auf Zweigen von Citrus Aurantium.
C. Citri Catt. auf Zweigen von Citrus Limonum.
C. Coryli Vogl. auf Corylus-Zweigen.
C. elevata (Berk.) Sacc. auf Zweigen von Evonymus und Ficus Carica.
C. arundinacea Sacc. auf Halmen von Arundo Donax und Zea Mays.
C. Rabenhorstii (Nke.) Sacc. auf Zweigen vieler Laubbäume.
— — var. Rosarum Sacc. auf Rosa-Zweigen.
— — var. subendoxyla Sacc. auf Zweigen von Celtis australis.
— — var. entypelloides Sacc. auf Rhamnus-Zweigen.
C. ampelina (Nke.) auf Weinranken.
C. Pruni Fuck. auf Zweigen von Prunus spinosa.

H. Sydow (Berlin).

Vestergren, Tycho, Zur Pilzflora der Insel Oesel. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. p. 76—117. Taf. III.)

Nach einleitenden Bemerkungen über die Pilzflora der Insel Oesel geht Verf. auf die von ihm dort gesammelten Species ein. Im ganzen wurden gefunden 79 Uredineen, 12 Ustilagineen, 3 Exobasidiineen, 6 Chytridineen, 22 Peronosporineen, 8 Exoasceen, 41 Pyrenomyceten, 25 Diskomyceten, 46 Sphäropsideen und 48 Hyphomyceten. Unter diesen befinden sich 10 für die Wissenschaft neue Arten nämlich:

Aporia Hyperici Vesterg. auf dürren Stengeln von Hypericum quadrangulum.
Beloniella osiliensis Vesterg. auf abgestorbenen Stengeln von Thalictrum.
Taphrina Vestergrini Giesenh. auf lebenden Blättern von Aspidium Filix mas.
Phoma pachytheca Vesterg. in der Rinde abgestorbener Salix-Zweige.
Septoria Caricis-montanae Vesterg. auf lebenden Blättern von Carex montana.
Rhabdospora Campanulae-Cervicariae Vesterg. an abgestorbenen Stengeln von Campanula Cervicaria.
Botrytis capsularum Bres. et Vesterg. in den Kapseln von Veronica aquatica.
Ramularia Vestergreniana Allesch. an lebenden Blättern von Levisticum officinale.
Fusarium osiliense Bres. et Vesterg. an lebenden Blättern von Briza media.
Melanconium didymoideum Vesterg. an berindeten Zweigen von Alnus incana.

Zu vielen bereits bekannten Arten werden wertvolle kritische Bemerkungen gegeben. H. Sydow (Berlin).

Sydow, H. und P., Beitrag zur Pilzflora des Litoral-Gebietes und Istriens. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 3. p. 232—254.)

P. Sydow besuchte 1902 das genannte Gebiet und richtete das Hauptaugenmerk namentlich auf die Ustilagineen und Uredineen. Von letzteren hat er 14 bereits beobachtete Arten nicht gesehen, wohl aber 63 neue Arten nachgewiesen; ferner hat er für das Ge-

biet als neu nachgewiesen: 7 Ustilagineen, 4 Peronosporeen, 3 Askomyceten und 2 Deuteromyceten. Nach einer Uebersicht über die Ausflüge und Verbreitung einzelner Arten und nach der Aufzählung der einschlägigen Litteratur folgt das Verzeichnis der gefundenen Arten. Von neuen Species (mit lateinischer Diagnose) werden angeführt:

1) Entyloma Leucanthemi Syd. (auf lebenden Blättern von Chrysanthemum Leucanthemum L.; Görz. Sporen sehr groß, bis 8 μ; wurde auch 1900 bei Brennerbad in Tirol vom Autor P. Sydow aufgefunden); 2) Hyalospora Adianthi-capilli-veneris (DC.) Syd. (Teleutosporen nachgewiesen, am linken Ufer des Isonzo bei Görz); 3) Aecidium Galasiae Syd. (auf Galasia villosa Cass. bei St. Gendra nächst Görz und zwischen Pirano und Strugnano in Istrien, dem zu Puccinia Tragopogi (Pers.) Corda gehörigen Aecidium nahe verwandt; 4) Caeoma exitiosum Syd. (auf jungen Zweigen von Rosa pimpinellifolia L. am Monte Maggiore in Istrien.)

Eine ausführlichere und ergänzende Diagnose erhalten die Arten: Puccinia Cardui-pycnocephali Syd. 1902 und Puccinia istriaca Syd. 1903; kritische Bemerkungen finden sich besonders bei Uromyces Anthyllidis (Grev.) Schroet., Uromyces Fabae (Pers.) De Bary, Uromyces Phyteumatum (DC.) Ung., Puccinia bromina Erikss., Puccinia Teucrii Biv., Puccinia tinctoriicola P. Magn., Zaghouania Phillyreae (DC.) Pat., Aecidium Euphorbiae Gmel. und auch Uromyces Limonii (DC.) Lév. — Kulturversuche dürften bei folgenden Arten interessante Aufschlüsse geben: Urocystis Anemones (Pers.) Schroet., Uromyces Anthyllidis (Grev.) Schroet., Puccinia bromina Erikss., Puccinia Centaureae DC. — Neue Nährpflanzen werden angegeben: für Puccinia annularis (Str.) Wint. das Teucrium flavum L., für Puccinia Menthae Pers. die Mentha mollissima Borkh., für Puccinia Teucrii Biv. das Teucrium Polium L., für Melampsora Lini (DC.) Tul. das Linum corymbulosum Rchb., für Aecidium Euphorbiae Gmel die Euphorbia carniolica Jcq. und für Cystopus candidus (Pers.) Lév. das Thlaspi praecox Wulf. — Von selteneren Arten sind zu erwähnen: Phleospora Jaapiana P. Magn. (bisher nur von den Nordseeküsten bekannt), Puccinia Teucrii Biv. (im südlichen Italien, Sizilien, Spanien, Malta und Marokko bisher nachgewiesen), Puccinia extensicola Plowr. (nur aus England bekannt gewesen) und Entyloma Bellidis W. Krieg. (nur in Brandenburg, Sachsen und auf Rügen gesammelt). Von den gefundenen Uredineen sind 50 Arten in Sydow: Uredineen, Fascikel XXXIV ausgegeben worden.

Aus der Arbeit ersieht man sofort, daß ein gründliches Studium der vom Verf. berücksichtigten Pilzfamilien in dem oben angegebenen Gebiete noch sehr vieles Neue und Interessante bringen muß.

Matouschek (Reichenberg).

Saccardo, P. A., Flora mycologica Lusitanica. (Bol. da Soc. Brot. 1903. p. 1—16.)

Das Verzeichnis enthält 129 Arten, meist parasitische Pilze, welche von Moller in Portugal gesammelt wurden. Die neuen Species sind:

Phyllosticta Gelsemii var. nov. Mandevilleae auf Blättern von Mandevillea suaveolens.

Macrophoma Ensetes auf Blättern von Musa Ensete.

Sphaeropsis Molleriana auf Zweigen von Glycine violacea.

Chaetomella atra var. bambusina auf Blättern von Bambusa viridiflavescens.

Ascochyta Phytolaccae auf Blättern von Phytolacca decandra.

A. ricinella auf Stengeln von Ricinus communis.

Diplodia palmicola var. Sabaleos auf Blattstielen von Sabal glaucescens.

Hendersonia Donacis form. bambusina auf Bambusa-Stengeln.
H. Magnoliae form. Chimonanthi auf Blättern von Chimonanthus fragrans.
Septoria Catalpae var. folliculorum auf Fruchtkapseln von Asclepias verticillata.
S. Lagerstroemiae auf Blättern von Lagerstroemia indica.
S. Halleriae auf Blättern von Halleria lucida.
S. semicircularis auf Blättern von Evonymus fimbriatus.
S. Galiorum form. Rubiae auf Stengeln von Rubia peregrina.
Rhabdospora nigrella form. Acnidae auf Stengeln von Acnida cannabina.
Rh. aloetica auf Aloe-Stämmen.
Leptothyrium Magnoliae auf Blättern von Magnolia grandiflora.
Colletotrichum versicolor auf Bambusa-Stämmen.
Phoma Campanemae auf Früchten von Arikuryroba Campanemae (diese aus Brasilien).

H. Sydow (Berlin).

Magnus, P., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Pilze des Orients. (Bull. de l'Herb. Boiss. Sec. Sér. T. III. 1903. p. 573—587. Tab. IV—V.)

Verf. giebt die Bearbeitung der von J. Bornmüller im Jahre 1899 im Orient gesammelten parasitischen Pilze. Unsere Kenntnis der geographischen Verbreitung vieler Arten wird hierdurch erweitert und der Kreis der Nährpflanzen für manche Art vergrößert. Aus der interessanten Arbeit seien die neuen Species erwähnt:

Ustilago phrygica in den Infloreszenzen von Elymus crinitus.
Tilletia Bornmülleri in den Fruchtknoten derselben Pflanze.
Puccinia bithynica auf Blättern von Salvia grandiflora.
Pyrenophora Pestalozzae auf Blättern von Alsine Pestalozzae.
Phyllosticta michauxioides und Ramularia Phyllostictae michauxioides, beide vergesellschaftet auf Blättern von Campanula michauxioides. Hier geht Verf. auch etwas ausführlicher auf das Zusammenleben gewisser Phyllosticta- und Ramularia-Arten ein.
Ovularia Bornmülleriana auf Blättern von Onobrychis Tournefortii.
Hendersonia Dianthi auf Stengeln von Dianthus fimbriatus.
Discula Dianthi auf Blättern und Stengeln von Dianthus Kotschyanus.

H. Sydow (Berlin).

Bubák, Franz, Zwei neue Pilze aus Ohio. (Journal of Mycology. Februar 1903. 3 p.) [In deutscher Sprache.]

Nach Untersuchungen des Verf. ist die in dessen Herbar befindliche No. 18 des von Kellerman in „Ohio Fungi“ verteilten Gloeosporium equiseti E. et E. eine Stamnaria-Art, die sich von der europäischen Stamnaria equiseti (Hoffm.) Sacc. wesentlich unterscheidet. Verf. wollte sie Stamnaria Kellermani nennen, aber inzwischen publizierten dieselbe Pflanze Massee und Morgan als Stamnaria americana. Die Diagnose wird vom Verf. ausführlich mitgeteilt. — Die in Saccardo Syllog. XVI beschriebene Stamnaria equiseti var. herjedalensis Rehm hält Verf. ebenfalls für eine neue Art, mit dem Namen Stamnaria herjedalensis (Rehm). — Die von Kellerman unter No. 64 der „Ohio fungi“ ausgegebene Cercospora-Art auf Althaea rosea Cav. beschreibt Verf. in einer deutschen Diagnose und hält sie für eine neue Art: Cercospora Kellermani Bubák; sie ist zwar mit Cercospora malvacearum Sacc. verwandt, unter-

scheidet sich aber von dieser und von C. althaeina Sacc. durch vielzellige Konidien, von der letztgenannten Art auch durch längere Konidienträger. Matouschek (Reichenberg).

Busse, Walther, Ueber die Krankheiten der Sorghumhirse in Deutsch-Ostafrika. (Tropenpflanzer. Zeitschr. f. tropische Landwirtschaft. Bd. VII. 1903. p. 517—527.)

In dem vorliegenden Berichte gibt uns Verf. eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse seiner eingehenden Studien, die er über die Krankheiten des wichtigsten Getreides in Ostafrika bisher gemacht hat.

Er bespricht zunächst die sog. „Mafuta- oder Assali“-Krankheit. Als besondere Kennzeichen der Seuche werden zuckerhaltige Ausscheidungen auf den Blättern und Stengeln, meist mit nachfolgenden, schwarzen, rußartigen Ueberzügen, stets aber mit gleichzeitig auftretenden, mehr oder weniger starken Rotfärbungen an diesen Organen angesehen.

Diese honigartigen Absonderungen werden jedoch mit Unrecht der Sorghumpflanze selbst zugeschrieben: sie werden vielmehr von Blattläusen (Aphiden) verursacht, welche vorwiegend zur Trockenzeit auftreten; rote Flecken auf den Blattflächen und rote Streifen längs der Blattnerven und über denselben rühren ebenfalls von den genannten Läusen her und es kam die Sorghumhirse unter übermäßiger Säfteentziehung infolge dieser Blattlauskrankheit sehr wohl ganz beträchtlich geschädigt worden.

Die Stoffproduktion der Sorghumpflanze wird aber nicht allein durch Saftentziehung seitens der Blattläuse ungünstig beeinflußt, sondern es tritt noch ein anderes Moment hinzu, die schon oben erwähnten schwarzen Ueberzüge, welche von sog. Rußtaupilzen herrühren, die sich in derselben Weise wie bei uns im Honigtau ansiedeln und dessen Zucker als Nahrung verbrauchen.

Die erwähnten roten Verfärbungen können indessen ganz verschiedene Ursachen haben, wie beispielsweise Störung des Stoffwechsels, der Atmung und Transpiration, Pilzinfektionen und Verwundungen mit nachfolgender Bakterieneinwanderung; deshalb können Rotfärbungen der Blätter und Blattscheiden allein keineswegs als unzweideutiges Merkmal der Blattlauskrankheit angesehen werden.

Es werden sodann besonders angestellte diesbezügliche Versuche besprochen. Vor allem tritt bei großer Feuchtigkeit oder auch aus anderen Gründen in der Blattscheide häufig Bakterienfäule ein, welche dann ein schnelles Fortschreiten der Rotfärbung von innen nach außen zur Folge hat.

Eine Rotfleckigkeit der Sorghumblätter kann auch durch Rostkrankheit hervorgerufen werden, als deren Erreger wiederum ein Pilz, Puccinia purpurea, erkannt wurde, welcher vom Verf. auch anderweitig ausführlicher besprochen worden ist (cf. Ber. d. bot. Gesellsch. Bd. XX. 1902).

Wenn auch die Rostkrankheit gegenwärtig in unserem Ostafrika noch keinen sonderlich großen Schaden anrichtet, so wird man doch gut tun, auch auf den Rost ein wachsames Auge zu be-

halten und die etwaige Ausdehnung dieser Krankheit für die Zukunft in Betracht zu ziehen.

In Vorderindien hat beispielsweise nach dem Verf. und zwar nach der Aussage zuverlässiger Gewährsmänner der Sorghumrost bereits einen ungleich bösartigeren Charakter angenommen und große Schädigungen der Getreidekultur zur Folge gehabt.

Für die Bekämpfung der Krankheit ist alsdann die in Ostindien gemachte Beobachtung wichtig, daß nämlich die einzelnen Kulturvarietäten der Hirse eine verschiedengradige Empfänglichkeit für den Rost besitzen. Man könnte daher bei etwaiger besorgniserregender Ausdehnung der Krankheit in Ostafrika diese Frage experimentell prüfen, um dadurch zu immunen Sorghumformen zu gelangen.

Ueber den Einfluß des Klimas auf den Sorghumrost ist noch nichts näheres bekannt; indessen ist Verf. geneigt, anzunehmen, daß auch die Ausbreitung dieser Krankheit durch abnorme Trockenheit begünstigt wird.

Ungleich größere Bedeutung als der Sorghumrost besitzt nun eine andere Pilzkrankheit der Hirse, nämlich der Brand. Dieser wird durch verschiedene Arten der Brandpilzgattungen Ustilago, und Tolyposporium hervorgerufen.

Wenn auch in nassen Jahren der Brand nicht fehlt, so tritt diese Krankheit doch ebenfalls besonders stark in trockenen Jahren auf. In erster Linie müssen nun die Eingeborenen dazu angehalten werden, bei der Ernte die brandkranken Pflanzen auf einen Haufen zu schichten und zu verbrennen. In Europa kennt man bekanntlich in der Beizung des brandigen Getreides ein verhältnismäßig einfaches und gut wirksames Bekämpfungsmittel, ein Mittel, das aber fürs erste schwerlich von den Negern wird angewendet werden können.

Während nun besonders in trockenen Jahren Brand und Blattlauskrankheit vielfach außerordentlich schädigend aufzutreten pflegen, so zeigt sich, daß auch reichlicher Regenfall sein Uebel im Gefolge hat. In den Sorghumfeldern haust alsdann zuweilen ziemlich arg ein tierischer Feind, ein zu den „Eulen“ zu rechnender Schmetterling mit hellgrauen, perlmutterglänzenden Flügeln von ca. 1,5 cm Spannweite, welchen Verf. vorläufig als „Sorghumbohrer“ bezeichnet.

In einem zivilisierten Lande würde sich dessen Bekämpfung durch Einsammeln der Raupen und Puppen während der Ernte und weiterhin durch Aufstellen von Fanglaternen ziemlich leicht bewerkstelligen lassen. Bei der bekannten Indolenz des Negers wird sich hingegen nach dem Verf. dem Uebel schwer beikommen lassen.

Verf. erwähnt alsdann noch einen Sorghumschädling ebenfalls tierischer Natur. Es wurden nämlich an den Wurzeln junger, kranker Sorghumpflanzen zahlreiche Larven einer noch nicht näher bestimmten Homopterenart aufgefunden, welche das Absterben der befallenen Wurzeln verursachen.

Zum Schlusse bringt Verf. noch einige allgemeine Bemerkungen über die Sorghumkultur, insbesondere auch über die durchaus

notwendige Aufklärung und Belehrung der Neger über die etwaig auftretenden Pflanzenkrankheiten. Im übrigen dürfte der Bericht sicherlich Anregung zu weiteren rationellen Beobachtungen über das Wesen der verschiedenen in der Kolonie auftretenden Sorghumkrankheiten wie auch anderer Pflanzenkrankheiten geben.

Heinze (Halle a. S.).

Ferraris, T., Il „Brusone" (Feuerkrankheit) del Riso e la „Piricularia Oryzae". (Malpighia. Vol. XVII. 1903. p. 129—159, mit 2 Tafeln.)

Die angegriffenen Reispflanzen zeigen rötliche Verfärbung, auf den Blättern und Halmen erscheinen gelbliche, später braune Flecken, die Rispen vergilben, die Aehrchen sind gelb, leer und fallen zur Zeit der Reife beim geringsten Stoß ab. Auf den absterbenden Teilen entwickeln sich mehrere saprophytische Pilze, so daß das ganze Reisfeld endlich wie verbrannt aussieht. Feuchte, nebelige Witterung und stark gedüngter Boden begünstigen die Verbreitung der Krankheit. Die italienischen, an mechanischen Bastelementen ärmeren Reissorten werden leichter angegriffen als die japanischen, mit starken Sklerenchymringen versehenen Sorten. Die erste Andeutung der Krankheit besteht aus braunen ringförmigen Flecken auf dem obersten Halmknoten. Dort sind alle Gewebe, mit Ausnahme der Oberhaut, von einem reichlich entwickelten Mycel durchdrungen, das Piricularia Oryzae Briosii e Cav. gehört, wie Kulturversuche auf feuchtem Sand nachwiesen. Der Pilz bleibt zunächst im Inneren des Knotens verborgen und verhindert das Aufsteigen des Saftes in die Rispe, indem er sämtliche Gewebe umspinnt und quetscht. Der Inhalt der Zellen wird zerstört und gebräunt; durch die Siebröhren verbreiten sich die Pilzhyphen auf- und abwärts im Halme, dann wuchern sie durch die zarte Ligula heraus und bilden zwischen dieser und der Scheide ihre Konidien. Gerade die schwache Blattscheide des obersten Knotens dient im jugendlichen Zustande als Eintrittspforte. Die Impfung wurde vom Verf. noch nicht versucht, während Kavakami (1902) sie auf japanischem Reis mit Erfolg ausgeführt hat.

Pantanelli (Zürich).

Molliard, M. und **Coupin, H.,** Sur les formes tératologiques du Sterigmatocystis nigra privé de potassium. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1695.)

Die kleine Mitteilung bringt einige beachtenswerte Beiträge zur pathologischen Morphologie der Pilze. Die Verff. kultivierten Sterigmatocystis nigra auf Raulinscher Lösung ohne Silicium, Eisen und Zink, die Coupin (C. R. 1903) als belanglos für die Pilze oder als schädlich für sie erkannt hat. Vergleiche zwischen den Pilzrasen, die auf kaliumfreier und kaliumhaltiger Lösung erwachsen waren, zeigten, daß die Entwickelung bei Gegenwart von Kalium sehr viel üppiger ausfiel. Bei Kaliummangel wird dem Pilz die Sporenbildung erschwert: die Konidienköpfe proliferieren und lassen eine Fortsetzung des vegetativen Mycelteiles

zu stande kommen; die proliferierenden Myceläste ihrerseits können zu unregelmäßigen Konidienträgern werden, die in ihrem Aufbau oft an die von Aspergillus und Penicillium her bekannten Verhältnisse erinnern. Kommt die Bildung der Sporen zu stande, so sind diese kleiner und schwächer kutinisiert als an normalen Exemplaren. In älteren Kulturen keimen sie vielfach direkt aus und liefern entweder unmittelbar Chlamydosporen oder einen Mycelfaden, der seinerseits ein oder mehrere Chlamydosporen entwickelt.

Küster (Halle a. S.).

Felt, E., P., 1903, 18th report of the State Entomologist on injurious and other insects of the State of New York, 1902. (New York St. Museum Bull. 64. 8°. p. 89–193. 6 pl., 2 fig.)

Der Bericht enthält interessante Kapitel über die im Jahre 1902 in New York schädlich gewordenen Insekten, über die Bedeutung der in Nord-Amerika aus Europa, Asien u. s. w. eingeschleppten Insekten (Schädlinge und Nützlinge), über die Bekämpfungs-Versuche gegen die San José-Schildlaus und ein Verzeichnis der zu Newport, N. Y., bis jetzt aufgefundenen Käfer. — Die Ausbreitung des Goldafters, Euproctis chrysorrhoea L., ist eine sehr rasche; 1896 erstreckte sie sich nur über 29 engl. Quadratmeilen, 1899 schon über 928, so daß dieser Schmetterling berufen scheint, ein Konkurrent des Schwammspinners zu werden. Aber außer ihrem Schaden an Bäumen ist die Raupe noch dem Menschen gefährlich, indem ihre Haare auf mechanische Weise Entzündungen der Haut hervorrufen. Es wird berichtet, daß Spaziergänger derart erkrankten, als der Wind stark einen Weg entlang blies, dessen Hecken von der Raupe befallen waren. — Neuerdings ist auch die Nonne, Psilura monacha L., in die Vereinigten Staaten eingeschleppt worden; allerdings wurden erst 5 Exemplare an Licht in Brooklyn, N. Y., gefangen. — Gegen die San José-Schildlaus haben sich am besten die Frühjahrsspritzungen, namentlich mit rohem Petroleum, aber auch mit Transeife bewährt.

Reh (Hamburg).

de Stefani-Perez, T., Alterazioni tardive di alcune piante per influsso di insetti. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 44—46.)

Die von Mytilaspis fulva verursachten Mißbildungen, die man auf Citrus limonum, aurantiaca, bigaradia trifft, sollen nur nach dem Verschwinden des Parasiten zur Entfaltung kommen, wenn die Lebenstätigkeit der Pflanze wegen der Annäherung des Winters herabgesetzt wird. Dasselbe soll nach dem Parasitismus von Myzus asclepiadis auf Nerium Oleander stattfinden.

A. Trotter (Avellino).

de Stefani-Perez, T., L'Asterolecamium variolosum Rotz. (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 161–164.)

Morphologische und biologische Angaben über diese Schildlaus und die Deformationen, die sie in Sicilien auf Pittosporon Tobira verursacht.

A. Trotter (Avellino).

de Stefani-Perez, T., Nuovi insetti galligeni e cecidi vecchi e nuovi. (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 112—115.)

Verf. beschreibt 15 von ihm selbst in Sicilien gefundene Gallen, unter denen wir die wichtigsten erwähnen:

Thamnurgus Delphini Rosenh., einfächerige, 5—10 mm lange, spindelförmige Hypertrophie des Stengels von Delphinum longipes;

Timaspis Helminthiae n. sp. (Hymenoptera), mehrfächerige, starke Hypertrophie des Blütenbodens von Helminthia aculeata;

Tephritis tristis Löw, Mißgestaltung der Knospen von Phagnalon saxatilis und rupestris;

Rhopalomyia Tamaricis n. sp. (Diptera), längliche, rötliche, einfächerige Verdickungen der dünnen Aeste von Tamarix gallica (bisher als Lepidopterocecidien mit Zweifel aufgefaßt).

A. Trotter (Avelino).

Massalongo, C., Di un nuovo genere de Ditteri galligeni (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 54—59.)

Die Cecidomye Orseolia Cynodontis (n. gen. et. n. sp. Kieffer et Massalongo) bildet Gallen auf Cynodon Dactylon, bisher bei Verona, in Emilia und Toskana beobachtet. Mehrere Abbildungen illustrieren die morphologischen Merkmale des Insektes.

A. Trotter (Avellino).

Massalongo, C., Nuovi Zoocecidii della Flora veronese. I. Serie. (Marcellia. Vol. II. 1903, p. 36—43, mit 3 Textfiguren.)

Diese Arbeit behandelt 12 zum Teil für Italien neue Gallen. Neu für die Cecidologie ist: Cecidomyinae auf Cytitus purpureus (balgartig zusammengefaltete Blättchen; im Inneren mehrere Larven).

A. Trotter (Avellino).

Massalongo, C., Scopazzi di natura parassitaria osservati su piante di Pieris hieracioides. (Bollettino d. Soc. Botanica. 1903. p. 154—155.)

Die befallenen Pflanzen waren nur 20—30 cm hoch; der Sproß sah ganz gestrüppig aus, weil vom Grunde aus zahlreiche kurze Aeste mit atrophischen Blättern nach Art eines Hexenbesens entsprangen. Die Köpfchen waren zahlreich, aber klein, die Achäne normal gestaltet, aber klein. In der Wurzel beherbergte ein Hohlraum die Larve eines unbekannten Curculioniden.

Pantanelli (Zürich).

Fernald, Mrs. Maria E., A catalogue of the Coccidae of the World. (Hatch Exper. Stat., Mass. agric. College, (Bull. 88. 1903. 8°. 360 p.)

Der Katalog enthält 1514 Schildlaus-Arten, jede mit ihrer Synonymie, den wichtigsten Nährpflanzen und der Verbreitung. Die Nomenklatur ist strenge nach den dafür gültigen Regeln durchgeführt, wobei natürlich das subjektive Urteil der Verfasserin entscheiden mußte, was dem nicht sehr erfahrenen Coccidologen die Benutzung recht erschweren wird. So heißt die alte Gattung Coccus

(Typus: die Cochenille-Schildlaus, C. coccus Costa) jetzt Dactylopius, die frühere Gattung Dactylopius (Typus: D. adonidum Geoffr.) jetzt Pseudococcus, die Art Lecanium lesperidum L. jetzt Coccus h., die Komma-Schildlaus jetzt Lepidosaphes ulmi L., u. s. w. Ref. kann sich mit diesen Aenderungen nicht befreunden; seiner Ansicht nach ist unsere Schildlaus-Kenntnis noch lange nicht genügend gefestigt hierzu, und ferner sind die alten Beschreibungen viel zu ungenau, als das sich entscheiden ließe, was damit gemeint ist, bezw. als daß sie Beachtung verdienten. Doch soll der Verf. daraus kein Vorwurf gemacht werden: sie ist nur der heutigen Moderichtung gefolgt. Von anderer Seite ist ihr der Vorwurf erhoben worden, daß sie nicht genau und kritisch genug alle Angaben angeführt habe. Diese Tatsache ist allerdings richtig; doch dürfte ein Vorwurf hierüber bei der Riesenarbeit eines solchen Katologes und der Zersplitterung der Literatur unberechtigt sein. Ref. ist der Ansicht, daß die Verfn. uneingeschränkten Dank aller derer verdient, die mit Schildläusen zu arbeiten haben, und daß ein Coccidologe ohne diesen Katalog überhaupt nicht mehr auskommen kann. Reh (Hamburg).

Leonardi, G., Generi e specie di Diaspiti. Saggio di sistematica delle Parlatoriae. (Estr. dagli Ann. R. Scuola sup. Agric. Portici. Vol. V. 1903. 59 p. 16 Fig.)

Zu den Parlatorien rechnet Verf. außer der Hauptgattung Parlatoria noch die Gattung Gymnaspis mit 3 Arten: perpusilla, bullata, aechmeae. Die Hauptgattung wird in 2 Untergattungen geteilt: Euparlatoria, (calianthina, theae, banksiae, proteus, cingula, myrtus, parlatoriae, pergandei) und Websteriella (zizyphi, aonidiformis, blanchardi). Am meisten sind die Parlatorien in der paläarktischen Region entwickelt (10 Arten), dann in der australischen (5). P. pergandei ist als einzige Art kosmopolitisch. Außer den sehr genauen Beschreibungen enthält die Monographie noch übersichtliche Bestimmungstabellen. Reh (Hamburg).

Leonardi, G., Generi e specie di Diaspiti. Saggio di sistematica delle Mytilaspides. (Estr. d. Ann. R. Scuola sup. Agric. Portici. Vol V. 1903. 114 p. 42 Fig.)

Die Anlage dieser Monographie ist die gleiche wie die der Parlatorien: genaue Beschreibungen, Bestimmungstabellen, geographische und synonymische Uebersicht, leider keine nach Nährpflanzen. Verf. führt 57 Arten an, die er auf 8 Untergattungen verteilt. Andererseits wird das Genus Ischnaspis (longirostris Sign. = filiformis Dougl.) in die Gattung Mytil. mit einbezogen. Interessant ist ferner, daß M. pomorum nicht nur diesen Namen behält, sondern sogar von M. conchiformis Gmel. getrennt wird, welch letztere Art allerdings mit M. ficus Sign. indentifiziert und von Ulme, Italien angeführt wird. Myt. ulmi Reaum vermißt dagegen Ref. — Ihre Hauptentwickelung erreicht Myt. in der australischen Zone (27 Arten), dann in der neotropischen (18), während die paläarktische nur 11 zählt. (Daß M. tokionis aus

Japan in der orientalischen Region aufgezählt wird, ist wohl nur ein Versehen.) Für die nearktische und äthiopische Region sind gar keine Arten angegeben, während M. pomorum doch in Nordamerika ganz gemein ist und gloverii und pinnaeformis (citricola) dort nur zu häufig sind. — Leonardis Diaspinen-Monographien werden, wenn auch nicht ganz einwandsfrei, doch für alle späteren diesbezüglichen Arbeiten grundlegend sein.

Reh (Hamburg).

Keller, C., Beobachtungen über die Lebensweise des Arven-Borkenkäfers (Tomicus Cembrae Heer). (Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1903. p. 337.)

Der harte Existenzkampf, den die Arve im Hochgebirgswald zu führen hat, ist weniger ein Kampf gegen die ungünstigen Verhältnisse des alpinen Klimas, als vielmehr ein erbitterter Kampf gegen tierische Einwirkungen, von welchen besonders der längst bekannte Arven-Borkenkäfer hervortritt. Trotzdem dieser Schädling seit dem Jahre 1856 durch Heer bekannt geworden ist, liegen doch bis jetzt nur ungenügende Mitteilungen über seine Lebensweise vor. Im heurigen Jahre gelang es nun Verf., neue Momente aus dem Leben des Schädlings festzustellen. Zunächst konnte mit Sicherheit ermittelt werden, daß auch in den hohen Lagen von 1800 bis 2000 m die Schwärmzeit und die Anlage der Rammelkammer der Hauptsache nach Ende Mai fällt. Die Minierarbeiten des Schädlings, an welchen anscheinend nur die Weibchen beteiligt sind, vollziehen sich mit erstaunlicher Regelmäßigkeit und erinnern fast der ganze Vorgang und die Herausschaffung des Bohrmehls an die beim Tunnelbau beschäftigten Arbeiter, welche in Schuttwagen den Abraum hinausfahren. Das Männchen frißt zuweilen einige Stummelgänge von der Rammelkammer in den Splint hinaus; diese benutzt es zunächst zum Aufenthalt und verschwindet später. Die aus dem Ei ausschlüpfende Larve frißt anfänglich im Splint; die Larvengänge streichen vorwiegend flach und die tiefe Einschneidung bildet eine Ausnahme. Die Verpuppung erfolgt in Splintwiegen, welche ebenso tief eingreifen wie die Muttergänge. Die große Fraßfigur ist sehr variabel, aber doch so charakteristisch, daß sie mit keiner anderen verwechselt werden kann. Die erste Generation dürfte in höheren Lagen allgemein bis Ende Juli entwickelt sein und ist nach Fankhausen im Hochgebirge alljährlich eine doppelte Generation anzunehmen. Trotzdem sind aber die Schädigungen nicht so umfassend, als man im Hinblick auf die starke Vermehrung und das regelmäßige Vorkommen im Gebirge erwarten sollte, nachdem natürliche Faktoren einer allzu starken Vermehrung des Schädlinges entgegenarbeiten. Hierzu gehört die räuberische Larve der Kamelhalsfliege (Raphidia), welche unter der Arvenborke lebt und die Borkenkäferbrut vernichtet. Der Größe nach zu urteilen ist dies wohl die Larve von Rhaphidia media Burm.

Stift (Wien).

Lüke, Weiteres zur Lyda-Kalamität. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw. Jahrg. XXXV. 1903. p. 411—417.)

Die vom Verf. früher an derselben Stelle gemachten Mittei-

lungen (Jahrg. XXXII. 1900. p. 288—297) werden ergänzt und berichtigt. Ueber die Empfindlichkeit der Imagines und Puppen von Lyda stellata Chr. gegen plötzlichen Witterungswechsel wurden interessante Beobachtungen gemacht, z. B. die radikale Beendigung einer Kalamität in der Oberförsterei Dammendorf durch Hagelfall und mehrstündige kalte Regengüsse. Die Vernichtung dürfte nur dem Temperatursturze zuzuschreiben sein. Verf. warnt jedoch, bei starkem Fraße sich auf solche Naturhilfe zu verlassen, da die Zeitdauer, während der solche Zwischenfälle eintreten müßten, nur 8 Tage beträgt. Der Wert der Bodenverwundung für die Bekämpfung wird nochmals an Beispielen hervorgehoben.

Unter den natürlichen Feinden steht das Schwarzwild obenan; ein erlegtes Stück barg fast nichts anderes als eingenommene Nahrung als Lydalarven, und es sollen sogar Sauen am übermäßigen Larvengenusse eingegangen sein. Die Ameisenlöwen, deren Trichter zu Tausenden in den Fraßbeständen angelegt waren, bemächtigen sich kriechender Wespen und töteten sie fast immer. Die Ursache des massenweisen Eingehens von Eiern, welches auf Unterholz und Anflug in Blößen eines Jahres erfolgte, konnte auch in Eberswalde nicht festgestellt werden.

Von den Gegenmitteln verwirft Lüke das Leimen auf Pappe, Papierbändern und Pfählen auf Kulturflächen oder Blößen. Durchaus erfolgreich war dagegen das Leimen vorher gerötelter Stämme nach dem alten Verfahren in der zweiten Maihälfte, doch ist auch dies kein Radikalmittel. Vom Schweineeintrieb hat Verf. den Eindruck gewonnen, daß er bei systematischer Durchführung die Kalamität unbedingt beheben kann, zumal bei 2½-jähriger Anwendung. Der Versuch, hinter den Schweinen Haushühner einzutreiben, hat sich nicht bewährt, da sie meist nur an der Oberfläche suchten und nicht tief nachscharrten. Sammeln von Wespen durch Schulkinder ist ein außerordentlich wirksames Hilfsmittel, das sich nur auf 30 Pf. Kosten fürs Tausend stellt; allerdings ist günstiges, d. h. kühles, sonnenloses Wetter Bedingung für den Erfolg.

Die Behandlung befressener Bestände durch Aushieb etc. muß entweder die Belichtung tunlichst vermeiden oder, wenn diese nicht zu vermeiden, durch Ansaat von Lupine wieder beseitigen.

Zum Schlusse empfiehlt Verf., vier neue Versuche anzustellen, die ihm Erfolg in Aussicht zu stellen scheinen. Solchen glaubt Ref. indes gleich dem ersten absprechen zu müssen, der im Einbringen Kälte erzeugender Flüssigkeiten — Verf. denkt wohl an Ammoniak oder Piktolin — in den gelockerten Boden bestehen soll. Der teuere Materialpreis und die Transportschwierigkeiten dürften dies Vorgehen ausschließen. Dagegen ist besonders der vierte Vorschlag zu billigen, durch Bestecken der Hauptflugbestände mit frischem Kiefernreisig kurz vor der Schwarmzeit die Wespe zur Eiablage hieran anzulocken und das belegte Reisig zu verbrennen.

Zum Schluß mahnt Verf., das Probesammeln auf Lydalarven auch in Altholzbeständen vornehmen zu lassen. Jacobi (Tharandt).

Vaney, C. und Conte, A., Sur un Diptère (Degeeria funebris Mg.) parasite de l'Altise de la vigne (Haltica ampelophaga). (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1275.)

In Haltica ampelophaga, dem gefürchteten Feind des Rebstockes, der in Frankreich beträchtlichen Schaden anrichtet, sind bereits zwei Parasiten gefunden worden, Zicrona coerulea und Perilitus brevicollis. Einen dritten Feind der Haltica fanden Verff. in der Diptere Degeeria funebris. Der neu gefundene Parasit ist dadurch von großem Interesse, daß er in großen Massen auftritt — in dem Material der Verff. waren 35 Proz. der untersuchten Haltica-Exemplare infiziert — so daß sich hoffen läßt, mit seiner Hilfe in Zukunft den Rebstockschädling wirksam bekämpfen zu können. Die Degeeria lebt im vorderen Teil des Abdomens ihres Wirtes; sie veranlaßt totale „Castration parasitaire" und schließlich den Tod der Haltica.

Küster (Halle a. S.).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Kreuzpointner, J., Pflanzenkrankheiten und Universalmittel dagegen. (Möllers Deutsche Gärtner-Zeitung. 1903. No. 6.)

Die meisten Krankheiten als Folgeerscheinung schlechter Entwickelung der Pflanzen erkennend, verweist Verf. auf die vorzüglichen Dienste der Kunstdünger, in erster Linie auf den Chilisalpeter, der es bei Vorhandensein der übrigen Nährstoffe ermöglicht, rasch kräftige, in der ersten Jugend nicht stockende Pflanzen zu erziehen. Da Vorsicht am Platze, gibt Verf. den Chilisalpeter in sehr kleinen Portionen nur im Frühjahr und Anfang Sommer, entweder bei Regenwetter ganz dünn gestreut oder aufgelöst im Gießwasser. Weiter ist auf Wechselwirtschaft und auf sorgfältiges Vernichten alter, von Insekten und Pilzen befallener Rückstände zu achten.

Beck (Tharandt).

Omeis, Th., Ueber die an der landwirtschaftlichen Kreisversuchsstation zu Würzburg ausgeführten Versuche und Untersuchungen bezüglich Bekämpfung der Peronospora viticola de By. (Blattfallkrankheit der Rebe). (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 6. p. 61; Heft 7. p. 77.)

Nach allgemeinen Bemerkungen über das Wesen der durch Peronospora viticola hervorgerufenen Krankheit und über die prophylaktische Wirkung der jetzt üblichen Bekämpfungsmethoden durch Bespritzen berichtet Verf. über die Ergebnisse der von ihm auf Anregung des Kgl. bayr. Staatsministeriums ausgeführten, auf Verwohlfeilerung der Bekämpfungsarbeiten abzielenden Versuche. Um dem Einfluß lokaler Zufälligkeiten Rechnung zu tragen, wurden in vier Weingärten verschiedener Lage die einzelnen ungefähr 1 a großen Versuchsparzellen zweimal (Anfang Juni und Anfang August) mit selbstbereiteten Kupferkalk- oder Kupfersodabrühen, Heufelder Kupfersodapulver bezw. Aschenbrandts Kupferzuckerkalkpulver in verschiedenen, meist schwächer als 1-proz. Lösungen bespritzt. Auf je 100 Rebstöcke kamen beim ersten Spritzen 6,0 l, beim zweiten Spritzen entsprechend der nun stär-

keren Belaubung 9,0 l Spritzflüssigkeit. Es ergab sich, daß 1-proz. Kupferbrühe (d. h. 1 kg Kupfervitriol : 1 hl Flüssigkeit) zur Bekämpfung der Peronospora vollständig genügt, wenn die Bespritzung zweimal jährlich, und zwar die erste kurz vor der Blüte, das zweite Mal etwa Anfang August vorgenommen wird. In normalen, nicht zu feuchten Jahren genügen für die zweite Bespritzung $^3/_4$- oder auch schon $^1/_2$-proz. Brühen. Bei Verwendung schwachprozentiger (d. h. 0,25- und 0,1-proz.) Brühen zeigten die bespritzten Stöcke zwar auch besseren Belaubungszustand als die ungespritzten, der Erfolg blieb aber unsicher, so daß derartig schwache Brühen nicht empfohlen werden können. Bei den Versuchen mit Heufelder Kupfersoda bewährte sich die 1-proz. Brühe gut; weniger sichere Wirkung zeigte die 0,5-proz.; unbefriedigte Resultate lieferte die 0,25-proz. und namentlich die 0,1-proz. Brühe. Das Aschenbrandtsche Kupferzuckerkalkpulver endlich zeigte nur in 3- und 2-proz. Brühen zufriedenstellende Resultate, hingegen erwiesen sich alle weniger als 1 Proz. Pulver enthaltenden Brühen als ungenügend.

Bei den Versuchen ließ sich beobachten, daß der einzelne Weinstock durch Bespritzen vollkommen geschützt werden kann, selbst wenn in seiner unmittelbaren Nähe stark erkrankte Stöcke stehen, eine Tatsache, die darauf hinweist, daß die Wirksamkeit der Bekämpfungsmaßnahmen eines Weinbergsbesitzers nicht von dem gleichzeitigen Mittun der Nachbarn abhängig ist.

Untersuchung des Mostes von ungespritzten und gespritzten Reben auf Zuckergehalt ergab ein Plus von $2^1/_2$ Proz. Zucker im Most der letzteren. Da die zur Untersuchung verwendeten unbespritzten Stöcke aber nur ganz schwach von der Peronospora befallen waren, läßt sich annehmen, daß der Unterschied im Zuckergehalt bei stärkerem Auftreten der Krankheit wesentlich größer sein wird.

Verf. stellte ferner noch fest, daß das Spritzen der Reben mit Kupferbrühe auch nach sanitärer Richtung hin vollständig unbedenklich ist. Es gelangen durch richtig, namentlich zur rechten Zeit ausgeführtes Spritzen nur ganz geringe Mengen Kupfer in den süßen Most, bei Anwendung 1- oder 2-proz. Brühen pro Liter nur etwa 0,002 g. Diese verschwindend kleinen Mengen werden während der Gärung mit der Hefe wieder aus dem Weine ausgeschieden, sodaß der vergorene Wein frei von Kupfer ist oder im höchsten Falle nur ganz minimale Spuren (pro Liter nur etwa 0,000055 g) enthält. Solche Spuren werden auch in Weinen beobachtet, die von dauernd ungespritzten Reben stammen. Beck (Tharandt).

Gassert, Zur Bekämpfung der Kiefernschütte. (Forstwiss. Centralbl. 1903. Heft 5.)

Bei zahlreichen, während einer Reihe von Jahren in den bayrischen Staatswaldungen zur Bekämpfung der Kiefernschütte vorgenommenen Spritzversuchen mit Kupfersalzpräparaten erwies sich die Bordelaiserbrühe als weitaus am wirksamsten. Kupfersoda muß als ein wenn auch nicht vollkommen gleichwertiges, so doch in der Wirkung nahestehendes Präservativ bezeichnet werden;

Kupferzuckerkalk und Kupferklebekalk ergaben meist negative Resultate. Man wird in Zukunft lediglich Bordelaiserbrühe verwenden, da, abgesehen von den vorzüglichen Erfolgen, die Kosten (20 bis 25 M. pro ha) sich im allgemeinen etwas niedriger stellen als für Kupfersoda.

Als beste Zeit zur Vornahme der Bespritzungen erwies sich die Zeit von Mitte Juli bis Mitte September. Sorgfältige Ausführung, sowie trockene Witterung und Verwendung eines dem Pflanzenstande und Unkrautwuchse entsprechenden Flüssigkeitsquantums vorausgesetzt, genügt nach übereinstimmenden Ergebnissen einmalige Spritzung. Wiederholte Spritzungen sind erforderlich, wenn kurz nach der ersten Regen eintritt oder wenn dichter Pflanzenstand bezw. starker Unkrautwuchs genügende Benetzung sämtlicher Pflanzen und Pflanzenteile bei einmaliger Bespritzung nicht erwarten lassen.

Die Versuche bestätigen, das einjährige Kiefern in Freisaaten wie im Saatbeet durch ein- oder mehrmalige Spritzungen nicht geschützt werden; die Wirkung tritt erst bei älteren Pflanzen ein. Beschädigungen der Pflanzen durch das Kupfersalz kamen nirgends vor, im Gegenteil war ein günstiger, in dichter, tiefgrüner Benadelung und kräftiger Triebentwickelung bemerkbar werdender Einfluß der Kupfersalzpräparate bei den bespritzten Pflanzen zu konstatieren. Als vorteilhafte Nebenwirkungen der Bespritzung sind örtlich Rückgang der Beschädigungen durch Rüsselkäfer (namentlich durch Pissodes notatus) und durch Agaricus melleus beobachtet worden. Beck (Tharandt).

Geucke, Wilhelm, Die Gemeingefährlichkeit der Baumschwämme und deren Bekämpfung. (Pomolog. Monatshefte. Jg. XXXIX. 1903. Heft 1 u. 2.)

Im Interesse des heimischen Obstbaues erörtert Verf. die bekannten makroskopischen Merkmale und hauptsächlichsten biologischen Momente der für den Obstzüchter bedeutungsvollen Polyporeen: Polyp. sulphureus, igniarius und hispidus. Bei der Bekämpfung ist das Hauptgewicht auf Verhütung der Infektion zu legen, da mit dem Erscheinen der auffälligen Fruchtkörper am Stamme ein Eingriff ohne Vernichtung des Baumes gewöhnlich nicht mehr angängig ist. Als vorbeugend werden empfohlen: Verbrennen bereits zersetzten (morschen) Stamm- und Astholzes, sowie der mit Messer oder Meißel bald nach dem Hervorbrechen zu entfernenden Fruchtkörper, rechtzeitiges Ausputzen, d. h. Vermeidung zu starker Wundflächen, Herstellung eines Wundverschlusses bei größeren Wunden mittels Baumwachs, Baummörtel oder warmem Steinkohlenteer und jährliche Revision bezw. Erneuerung rissig gewordener Wundverschlüsse. Beck (Tharandt).

Rothenbach, Ein neues Verfahren zum Sterilisieren von Flüssigkeiten. (Die deutsche Essigindustrie. Jahrg. VII. No. 37.)

Nach einer eingehenden Beschreibung des durch Patent No. 140139 geschützten Verfahrens und seiner Wirkungsweise, so-

wie der Erfahrungen, welche der Erfinder (Look) dieses Verfahrens, welches kurz darin besteht, daß über die Mündung einer Flasche oder dergl. vor der Sterilisation eine Kappe aus Glas oder dergl. gestülpt wird, die weder an der Wandung, noch an der Mündung fest anzuschließen braucht, gemacht hat, berichtet der Verf. über Prüfungsversuche. Diese haben bewiesen, daß eine auf eine Flasche lose aufgesetzte Glaskappe, die allerdings auf der Flaschenmündung auf- und an dem erweiterten Teil des Flaschenkörpers anliegen muß, tatsächlich im stande ist, sämtliche Keime nach dem Sterilisieren abzuhalten. Kausch (Charlottenburg).

Woernle, Schutz der Nadelholzpflanzen gegen Wildverbiß durch Umwickelung des Spitztriebes mit Draht. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdw. Jg. XXXV, 1903, p. 484—488.)

Bericht über die Erfahrungen, welche in dem württembergischen Schwarzwaldrevier Kalmbach mit dem Schutze der Gipfelknospen von Tannenpflanzungen gemacht wurden, indem man den Trieb mit einer lockeren Spirale aus Blumendraht umwickelte. Das Verfahren war schon vor der Veröffentlichung eines ähnlichen Vorschlages durch Simon (ebenda 1902) eingeschlagen worden. Während sich das Mittel im ersten Winter vorzüglich bewährte, wurden im folgenden Februar plötzlich hunderte von Gipfeln unterhalb des Quirls abgebissen und zwar von einigen alten Ricken — eine Bestätigung der Erfahrung, daß Abwechslung und Mannigfaltigkeit in den Schutzmitteln zum Erfolge nötig sind. Die Drahtspirale kann daher nur unter Abwechslung mit Schmiermitteln (z. B. Kalk- und Teermischung) in bescheidenen Grenzen Anwendung finden. Außerdem erheischt diese viel Vorsicht, weil der Draht vielfach trotz Vorbehandlung mit Kochsalzlösung oder verdünnter Salzsäure nicht rechtzeitig durchrostet, vielmehr den Höhentrieb erwürgt. Des Verf. Schlußfolgerung lautet demnach: „Die Drahtspirale ist kein sicheres, ja sogar eventuell weniger zuverlässiges Schutzmittel gegen Wildverbiß, als die bisher bekannten Mittel; sie ist bei sorgfältiger Anwendung teurer und sie ist den Kulturen schädlich, solange nicht ein Rosten des Drahtes binnen längstens zwei Jahren gewährleistet ist." Jacobi (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Bearb. u. hrsg. v. Alfred Koch. Jg. XII. 1901. Leipzig (Hirzel) 1904. VIII, 535 p. 8°. 16 M.

Nagorsky, W., Haupt-Prinzipien und Bedingungen der Kampfes gegen die Epizootien. (Fortschr. d. Veterinär-Hyg. Jg. I. 1904. Heft 10. p. 277—280.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Käsewurm, Untersuchungen über die Dauer der bakteriologischen Nachweisbarkeit von Milzbrandkeimen in Kadavern und in eingetrocknetem keimhaltigen Prüfungsmaterial durch das Plattenkulturverfahren und die Färbemethoden. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 6. p. 169—176.)

Peter, A., Eine einfache elektrische Heizung für Brutkasten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 686—688. 1 Fig.)

Raehlmann, E., Ueber ultramikroskopische Untersuchungen von Glykogen, Albuminsubstanzen und Bakterien. (Berlin. klin. Wchnschr. Jg. XLI. 1904. N. 8. p. 186—190. 3 Fig.)

Schäffer, Zur Milzbrandfärbung nach Mc. Fadyean. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 6. p. 176—181. 1 Taf.)

Troussaint, Procédé simple pour mettre en évidence le colibacille dans les eaux qui le renferment en très petite quantité. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 7. p. 304—305.)

—, Procédé simple pour mettre en évidence le colibacille dans les eaux qui le renferment en très petite quantité. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 8. p. 379—381. [Réun. biol. Marseille].)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Arthur, J. C., New species of Uredineae 3. (Bull. Torr. Bot. Club. Vol. XXXI. 1904. p. 1—8.)

Bandi, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. Phragmidium subcorticium (Schr.) Puccinia caricis montanae E. Fisch. (Diss. phil. Berlin 1904. 36 p.)

Bastian, H. Charlton, The anatomical characters of the so-called Filaria perstans and on the mode of infection thereby. (Lancet 1904. Vol. I. N. 10. p. 643—645.)

Baur, Erwin, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte der Flechtenapothecien. 1. (Botan. Ztg. Abt. I. Originalabh. 1904. Heft 2. p. 21—44. 2 Taf. u. 1 Fig.)

Beijerinck, M. W., Ueber die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 593—599.)

Caullery, Maurice et **Mesnil, Felix**, Sur un type nouveau (Sphaeractinomyxon stolci n. g. n. sp.) d'Actinomyxidies, et son développement. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 9. p. 408—410.)

— —, Sur les affinités des Actinomyxides. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 9. p. 410—412.)

Clerc, J., La cueillette des champignons. (Suite.) (Bull. soc. nat. Ain 1903. p. 14—16.)

Dangeard, P. A., Sur le développement du perithèce chez les Ascomycètes. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 10. p. 642—643.)

Delacroix, G., A propos de Stromatinia linhartiana Prill. et Del. (= Sclerotinia cydoniae Schellenb.) (Bull. soc. myc. Fr. Vol. XIX. 1903. p. 347—349.)

—, Sur l'indentité réelle du Shaeropsis malorum Peck. (Bull. socmycol. Fr. Vol. XIX. 1903. p. 350—352.)

Filatoff, E. D., Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der Bombyx mori (L.) und der Periplaneta orientalis (L.) bei artefizieller Infektion derselben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 658—686.)

Foà, Anna, Ricerche intorno a due specie di flagellati parassiti. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. Anno 1904. Rendiconti. Cl. d. sc. fis. mat. e nat. Vol. XIII. Fasc. 3. p. 121—130. 6 Fig.)

Fuhrmann, O., Ein merkwürdiger getrenntgeschlechtlicher Cestode. [Vorl. Mitt.] (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904. N. 10. p. 327—331.)

Gallaud, Sur la nature des champignons des mycorhizes endotrophes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 7. p. 307—309.)

Giles, G. M., Cold weather mosquito notes from the united provinces — North West India. [Contin.] (Journ. of trop. Med. Vol. VII. 1904. N. 4. p. 49—52. 3 Fig.)

Hennings, P., Ueber das Vorkommen des echten Hausschwammes an lebenden Bäumen. (Centralbl. d. Bauverwaltung. Bd. XXIII. 1903. p. 600.)

Herlitzka, Sull' isolamento di un corpo glicolitico del Saccharomyces cerevisiae. (Giorn. R. Accad. med. Torino 1903. N. 2 e 3.)

Hofer, B., Die Schlafsucht des Karpfens. (Allg. Fischerei-Ztg. Bd. XIX. 1904. N. 3. p. 48, 49. 1 Fig. [Trypanoplasma cyprini].)

Holden, R. J. and **Harper, R. A.,** Nuclear division and nuclear fusion in Coleosporium sonchi arvensis Lev. (Trans. Wiscons in Acad. Sc. arts a. lett. Vol. XIV. 1903. p. 63—82. 2 Taf.)

Kieffer, J. J., Description d'un Cynipide nouveau. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 1.)

Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen. 11. Bericht 1902. Hamburg (Gräfe u. Sillen) 1903. 56 p. 1 Fig. (Sep.-Arb. d. bot. Staatsinst. Hamburg). 2 M.

Laveran, A., Sur des culicides de Rochefurt-sur-Mer et de Camargue. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 8. p. 325—326.)

Low, George C., Filaria perstans and the suggestion that it belongs to the genus Tylenchus (Bastian). (Lancet 1904. Vol. I. N. 7. p. 420—421. 4 Fig.)

Meyer, Werner, Beitrag zum Vorkommen der Rinderfinne beim Kalbe, sowie über die Möglichkeit einer intrauterinen Infektion desselben. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 6. p. 188—190.)

Micko, Karl, Untersuchung von Fleisch-, Hefen- und anderen Extrakten auf Xanthinkörper. 2. Die Xanthinkörper der Hefenextrakte. (Ztschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VII, 1904. Heft 5. p. 257—269.)

Moore, John, T., The occurrence of Taenia nana in Texas (the first, or, at least, the second, reported case in North America. Med. News. Vol. LXXXIV. 1904. N. 6. p. 251—254. 7 Fig.)

Nicolle, Ch., Sur une hémogrégarine du Crapaud. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 8. p. 330—332.)

Powell, S. Arthur, The life span of the Guinea-worm. (Lancet 1904. Vol. I. N. 9. p. 576—577.)

Rehm, H., Beiträge zur Ascomyceten-Flora der Voralpen und Alpen. 2. (Oesterr. Bot. Ztschr. Jg. LIV. 1904. N. 3. p. 81—88.)

Richet, Charles, Études sur la fermentation lactique. 1. De l'action soi-disant antiseptique du chloroforme et du benzène. Effets de la fluorescence sur la fermentation lactique. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 6. p. 216—221.)

Saito, K., Ueber die Eiweißzersetzung durch Schimmelpilze. (Bot. Mag. Tokyo. Vol. XVII. 1903. p. 267—276. [Japanisch].)

—, Labenzym und Katalase bei Aspergillus Oryzae. (Ib. p. 176—278. [Japanisch].)

Schardinger, Franz, Azetongärung. (Wiener klin. Wchnschr. Jg. XVII. 1904. N. 8. p. 207—209.)

Schneider, A., Bacteria in modern economic agriculture. (Pop. sc. monthly 66. 1903. p. 333—343.)

Stoklassa, Julius, Alkoholische Gärung im Tierorganismus und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Tiergeweben. 1. Teil. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CI. Heft 7/8. p. 311—339. 2 Fig.)

Trouessart, E. L., Sur la coexistence de deux formes d'Hypopes dans une même espèce chez les Acariens du genre Trichotarsus. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 6. p. 234—237. 4 Fig.)

—, Sur le mode de fécondation des sarcoptides et des tyroglyphides. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 8. p. 367—368.)

Ward, H. Marshall, On the histology of Uredo dispar Erikss., and the Mycoplasm hypothesis. (Phil. Trans. of the R. soc. London. Ser. B. Vol. CXCVI. 1904. p. 29—46. 3 Taf.)

Washburn, F. L., A parasitic maggot. (Journ. of the American med. assoc. Vol. XLII. 1904. N. 3. p. 172—173. 3 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Beythien, A., Hempel, H. und **Kraft, L.,** Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von Crenothrix polyspora in Brunnenwässern. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VII. 1904. Heft 4. p. 215 - 222.)

Duclaux, E., Études d'hydrographie souterraine. [Suite.] (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 2. p. 121—128. 1 Fig.)

Springfeld, Graeve und **Bruns,** Verseuchung einer Wasserleitung mit Nachweis von Typhusbacillen im Schlamm des Erdbehälters. (Klin. Jahrb. Bd. XII. 1904. Heft 1. p. 28—44. 3 Skizzen.)

Sinno, Andrea, Le acque minerali in bottiglia in vendita a Napoli. (Riv. d'igiene e san. pubbl. Anno XV. 1904. N. 6. p. 191—204.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Clemm, Walther Nic., Ueber gesundheitsgemäße Aufbewahrung der Nahrungsmittel als Schutz gegen Vergiftungsgefahren. (Therapeut. Monatsh. Jg. XVIII. 1904. Heft 3. p. 140—146. 3 Fig.)

Utz, Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel mit Einschluß der Fette und Oele im Jahre 1903. 8. Fleisch und Fleischwaren. 9. Bier. 10. Essig. 11. Gewürze. 12. Honig. 13. Konservierungsmittel. (Oesterr. Chemiker-Ztg. Jg. VII. 1904. N. 5. p. 102—105.)

Milch, Molkerei.

Berggrün, Emil, Die Bakterien der Milch. [Vortrag.] (Allg. Wiener med. Ztg. Jg. XLIX. 1904. N. 5. p. 49—50; N. 6. p. 61.)

v. Freudenreich, Ed., Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXIII. 1904. N. 10. p. 149.)

Harrison, F. C. and **Connell, W. T.,** A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 637—657.)

Kister und **Liefmann,** Beitrag zur Milchreinigung mittelst Zentrifugen. [Schluß.] (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXIII. 1904. N. 9. p. 129—132.)

Leys, A., Méthode de recherche des fluorures et autres antiseptiques dans les beurres. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCV. Sér. 6. T. XIX. 1904. N. 5. p. 238—243.)

Loevenhart, A. S., Ueber die Gerinnung der Milch. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLI. 1904. Heft 3. p. 177—205.)

Marchal, E., Étude microbiologique d'un fromage toxique. (Bull. de l'agric. Vol. XIX. 1903. p. 673—677.)

Utz, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 600—631.)

Weigmann, Höft und **Gruber,** Fortschritte auf dem Gebiete der Chemie, Hygiene und Bakteriologie der Milch und ihrer Erzeugnisse. (Chemiker-Ztg. Cöthen. Jg. XXVIII. 1904. N. XIX. p. 229—232.)

Fleisch.

Franke, M., Der Fleischdämpfer von Rietschel und Henneberg „System Franke" und der Dampf-Fleisch-Sterilisator von Becker und Ullmann „System Hönnicke". (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 6. p. 190—196.)

Hoffmann, R., Das Fleisch finniger Rinder. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 6. p. 181—186.)

Huon et **Monier,** Des accidents produits par les conserves de viande; leurs causes, et les moyens de les éviter. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 8. p. 383—385. [Réun. biol. Marseille].)

Memmen, Die tierischen Schmarotzer und deren Bedeutung für die Fleischbeschau. (Ztschr. f. d. ges. Fleischbeschau. Jg. I. 1904. N. 12. p. 173—175.)

Ostertag, R., Leitfaden für Fleischbeschauer. Eine Anweisung für die Ausbildung als Fleischbeschauer und für die amtlichen Prüfungen. 7. neubearb. Aufl. Berlin (Schoetz) 1904. XIV, 314 p. 176 Fig. 7,50 M.

Seimann, Milch: Belehrung für Vieh- und Fleischbeschauer, welche nicht Tierärzte sind. Ueber amtl. Auftrag verf. (2. verm. Aufl.) Korneuburg (Kühkopf) 1904. 160 p. 8°. 1,20 M.

Bier, Brauerei.

Claussen, N. Hjelte, Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und seine Erreger. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1903. N. 9. p. 137—142.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les vins acides. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 19. p. 73—74.)

Desmoulins, A. M., Conservation des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 20. p. 78.)

Guénaux, G., Les traitements des maladies des vins, cidres et spiritueux. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 20. p. 78.)

—, Les vins de bonne conservation. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 23. p. 90.)

—, Les vins tartriqués. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 18. p. 69—70.)

Meissner, R., Kenntnis der abnormen Gärung des Moscato d'Asti spumante. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angew. Bot. Jg. I. 1903. p. 96—150.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Dieudonné, Massenerkrankung durch Kartoffelsalat. (Sitz.-Ber. d. phys.-med. Ges. Würzburg. 1903. N. 7. p. 97—99.)

Juckenack, A. und **Pasternack, R.,** Beiträge zur Untersuchung und Beurteilung der Speisefette. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VII. 1904. Heft 4. p. 193—214.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Kausch, Vorrichtungen zur Desinfektion mittels trockener Hitze. [Zusammenfassende Uebersicht.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIV. 1904. N. 14/15. p. 417—427. 17 Fig.)

Lombardo, Pellegrino P., Il contenuto bacterico del sottasuolo di Messina. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 1. p. 1—22.)

Mayo, N. S. and **Kinsley, A. J.,** Bacteria of the soil. (Kansas Agric. Exp. Stat. Bull. 117. 1903. p. 167—184.)

Schreib, H., Fortschritte in der Reinigung der Abwässer. (Chemiker-Ztg. Jg. XXVIII. 1904. N. 22. p. 267—269.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aderhold, R., Der heutige Stand unserer Kenntnisse über die Wirknng und Verwertung der Bordeauxbrühe als Pflanzenschutzmittel. (Jahresber. Vereinig. d. Vertreter angew. Bot. Jg. I. 1903. p. 12—36.)

Alwood, W. B., Orchard Studies 13. Some observations on brown gall of Apple Trees. Virgin. agr. exp. stat. Bull. 140. 1903. p. 189—212. M. Fig.)

Appel, Otto und **Strunk, H. F.,** Ueber einige in Kamerun auf Theobroma cacao beobachtete Pilze. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 20/22. p. 632—637. 13 Fig.)

Bolley, H. L., Diseases of flax and flax-sick soil. (North Dakota stat. Bull. LV. p. 186—198.)

Bossu, C., Recherches sur la balaie de sorcière du prunier (Exoascus insitiae Sad.) (Bull. agric. 19. 1903. p. 692—695. 2 Taf.)

Bouquet, Robert, L'oïdium et l'eau chaude. (Journ. d'Agricult. prat. Année LXVIII. 1904. N. 10. p. 313.)

Butler, E. J., Report on "Spike" disease among Sandelwood trees. (Calcutte, office of the superintendent of government printing. India 1903. 11 p. 8°.)

—, A deodar disease. (Calcutta, office of the superintendent of government printing. India. 1903. 2 p. 8°. 2 Taf.)

Calabrese-Milani, A., Contributo alla cecidologia delle flora avellinese. (Boll. soc. nat. Napoli. Vol. XVI. 1903. p. 28—82. 4 Taf.)

Carruthers, William, Annual report for 1903 of the consulting botanist. (Journ. of the R. Agric. Soc. of England. Vol. LXIV. 1903. p. 296—309. 5 Fig. [Pflanzenkrankh.].)

Cecconi, G., Note di entomologia forestale. (Boll. soc. entomol. Ital. Anno XXXIV. (1902). Trim. 3. 1903. p. 26—133.)

Chittenden, F. H., A brief account of the principal insect enemies of the sugar beet. (U. S. Depart. of agriculture. Divis. of entomol. Bull. 1903. N. 43. 71 p. 65 Fig.)

Cobb, N. A., Letters on the diseases of plants. [Forts.] (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 11. p. 1057—1072. Fig. 103—122.)

Corti, A., Contribution à l'étude de la cecidologie suisse. (Herbar. Boiss. Sér. 2. Vol. IV. 1904. p. 1—18.)

Cuboni e **Megliola,** Sopra una malattia inferta alla colture dei funghi mangerecci. (Atti R. Accad. Lincei. Vol. XII. 1903. p. 440—443.)

Delacroix, G., Sur le parasitisme du Dothichiza populea Sacc. et Br. sur diverses espèces de peupliers. (Bull. soc. mycol. Fr. Vol. XIX. p. 353—355.)

—, Sur la pourriture des pommes de terre. (Bull. soc. mycol. Fr. Vol. XIX. 1903. p. 356—376.)

—, Sur le „blanc" des feuilles de Murier de Madagascar produit par Ovulariopsis moviocola n. sp. (Bull. soc. Mycol. Fr. Vol. XIX. p. 342—346. 4 Fig.)

Die Bekämpfung des Boll-weevil. (Tropenpflanzer. Jg. VIII. 1904. N. 3. p. 149.)

Die Reblausbekämpfung in den Jahren 1902 und 1903. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 10. p. 83—84.)

Edson, A. W., The black rot of grapes in North Carolina. (N. Carolina agric. exp. stat. bull. 1903. p. 133—154.)

Eggers, Die Borkenkäfer des Großherzogtums Hessen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 2. p. 88—100. 1 Fig.)

Fuller, C., Collar rot of the orange. (Agric. Journ. and Min. Rec. Vol. VI. 1903. p. 150—151.)

Galland, J., De la place systématique des endophytes d'Orchidées. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 8. p. 513—515.)

Guercio, E. del, Notizie e suggerimenti pratici per conoscere e combattere gli animali nocivi alle piante coltivate ed ai loro frutti nel campo e nei locali per la conservazione. (Nuove relazioni lavori. Staz. entomol. agrar. Firenze. p. 1. N. 4. Firenze, tip. Ricci 1902. 2 Fig.)

Güssow, Hans Th., Clover sickness and its cause. (Journ. of the Agricult. Soc. of England. Vol. LXIV. 1903. p. 377—391. 2 Fig.)

Hecke, Ludwig, Ueber das Auftreten von Plasmopara cubensis in Oesterreich. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 1. p. 1—5.)

Hennings, P., Einige schädliche Rußtaupilze auf kultivierten Nutzpflanzen in Deutsch-Ostafrika. (Notizbl. Bot. Garten u. Mus. Berlin. 1903. N. 32. p. 80—82.)

Houard, C., Caractères morphologiques des Acrocécidies caulinaires. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 2. p. 102—104.)

Hunger, F. W. T., Die Verbreitung der Mosaikkrankheit infolge der Behandlung des Tabaks. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 11/12. p. 405—408.)

Johnson, T., A willow cauker. (Read before the meeting of British assoc. Southport 1903.)

de Istvanffi, Gy., Sur l'hivernage de l'oïdium de la vigne. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 9. p. 596—597.)

—, Sur la perpétuation du mildiou de la vigne. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 10. p. 643—644.)

Iwanoff, K. S., Ueber Trichothecium roseum Link, als Ursache der Bitterfäule von Früchten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 1. p. 36—40. 7 Fig.)

Kirchner, O., Versuche zur Bekämpfung der Getreidebrandkrankheiten. (Naturwiss. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. I. 1903. Heft 12. p. 465—470.)

—, Eine Milbenkrankheit des Hafers. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 1. p. 13—18. 1 Taf.)

Klebahn, H., Ueber die Botrytis-Krankheit der Tulpen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 1. p. 18—36. 1 Taf.)

Küster, E., Ueber die Eichengalle des Synophrus politus. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 76.)

Kulisch, Paul, Wie sollen wir den Aescher bekämpfen? (Die Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 9. p. 98—99; N. 10. p. 109—110.)

v. Lagerheim, G., Zoocecidien vom Feldberg. (Mitt. Baden. Bot. Ver. 1903. p. 337—344.)

Laloy, L., Bourrelets inflammatoires des arbres. (Nature 1903. p. 256. M. Fig.)

Langenbeck, E., Die Pilzerkrankungen der Getreidearten im Sommer 1903 in ihrem Zusammenhang mit abnormen Witterungserscheinungen. (Königsberger Land- u. forstw. Ztg. Jg. XXXIX. 1903. N. 51. p. 381—382.)

Laubert, R., Eine neue sehr verbreitete Blattfleckenkrankheit von Ribes alpinum. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwesen. Jg. II. 1904. Heft 1. p. 56—58. 4 Fig.)

Mackintosh, R. S., Notes on some of the insects and fungus diseases affecting horticultural crops. Bull. Alabama agric. exp. stat. 1903. p. 84—104.)

Malkoff, Konstantin, Die Cikade Tettigonia viridis L. als Schädiger der Obstbäume in Bulgarien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 1. p. 40—43. 1 Fig.)

Mangin, L. et **Viala, P.**, Nouvelles observations sur la Phthiriose de la Vigne. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 8. p. 529—531.)

Massalongo, C., Nuovi Zoocecidi della flora Veronese. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 36.)
Mayr, H., Ist der Schüttepilz (Lophodermium pinastri) ein Parasit? (Forstwirtsch. Centralbl. Bd. XLVII. 1903. p. 547—556. 1 Taf.)
Molliard. Marin, Mycélium et forme conidienne de la Morille. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1903. N. 8. p. 516—517.)
Mottareale, G., L'Ustilago Reiliana f. Zeae e la formazione dei tumori staminali nel granone. (Ann. Scuola sup. agric. Portici. Ser. II. Vol. IV. 1903.)
Osterwalder, A., Zu der Abhandlung von Ritzema Bos: Drei bis jetzt unbekannte, von Tylenchus devastatrix verursachte Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1903. Heft 1. p. 43 - 46.)
Oudemans, C. A. J. A. en **Koning, C. J.**, Nieuwe ziekte in de Tabak. (Versl. Vergad. kon. Acad. Wetensch. 1903.)
Reuter, E., In Schweden im Jahre 1901 aufgetretene schädliche Insekten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankk. Bd. XIII. 1903. Heft 5. p. 268—269.)
—, In Dänemark im Jahre 1901. aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 5. p. 269—270.)
Ritzema Bos, J., Bijdrage tot de kennis van den schurftziekte der aardappelen. (Landbouwk. Tijdschr. 1903. p. 356—364.)
Sabouraud, R., Les teignes cryptogamiques et les rayons X. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 1. p. 6—25. 7 Fig.)
Sarauw, G. F. L., Sur les mycorrhizes des arbres forestiers et sur le sens de la symbiose des racines. (Rev. Mycol. Vol. XXV. 1903. N. 100. p. 157—172; Vol. XXVI. 1904. N. 101. p. 332—353.)
Slawkowsky, W., Entwickelung und Bekämpfung der Woll- und Blutlaus. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 6. p. 43—44.)
Simpson, C. B., The codling moth. (U. S. Depart. of agricult. Divis. of entomol. Bull. 1903. N. 41. 105 p. 16 Taf. u. 19 Fig.)
Stefel, L., Versuche über Bekämpfung der Peronospora mit Fostit und Aschenbrandpulver. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 11. p. 121—124.)
Störmer, K., Peritelus griseus Oliv, ein neuer Schädling am Hopfen aus der Familie der Rüsselkäfer. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 1. p. 7—9.)
Tabakextrakt als Insektizid. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 11. p. 125—127.)
The Diseases of Stock and how to treat them. (Agric. News Barbado. 2. 1903. p. 117.)
Tomato diseases. Tomato black spot (Microsporium tomato). (The Garden. Vol. LXIII. 1903. N. 1644. p. 359—360. M. Fig.)
Trotter, A., Miscellanee cecidologiche 1—3. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 29).
Tuzson, H., Anatomische und mykologische Untersuchungen über den falschen Kern und die Zersetzung des Rotbuchenholzes. (Math. u. nat. Ber. aus Ungarn. Bd. XIX. 1901. ersch. Leipzig 1904.)
Viala, P. et **Pacottet, P.**, Sur les Verrues des feuilles de la vigne. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 3. p. 161—163.)
— —, Sur la culture du Black rot. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 5. p. 306—308.)
— —, Nouvelles études sur le black-rot. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 23. p. 90.)
Voelcker, J. Augustus, The Woburn experimental station of the R. Agricultural Society of England. (Journ. of the R. agric. soc. of Engl. Vol. LXIV. 1903. p. 328—347. [Potat. disease etc.].)

Inhalt.

Zusammenfassende Uebersichten.

Winkler, W., Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage, p. 97.

Originalreferate aus bakteriol. und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Delacroix, Edouard - Georges, Travaux de la station de pathologie végétale, p. 118.
van Iterson jr., G., Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien, p. 106.
Henneberg, W., Eingesandte Holzproben aus gereinigten Brennereigärbottichen, p. 115.
—, Einfluß verschiedener Milchsäurebacillenarten und einer Essigsäure-

bakterienart auf die Gärung der Hefe in Getreidemaische. (Schädliche Milchsäurebacillen), p. 116.

Referate.

Abbado, M., Monografia dei generi Allescherinae Cryptovalsa, p. 138.
Bokorny, Th., Vergärung von Rohrzucker und Malzzucker bei hoher Zuckerkonzentration, p. 119.
—, Beeinflussung des Hefe-Invertins durch konzentrierte Zuckerlösungen, p. 122.
—, Empfindlichkeit der Enzyme, speziell der Laktase gegen Alkohol und Säuren, p. 124.
Bubák, Franz, Zwei neue Pilze aus Ohio, p. 141.
Busse, Walther, Ueber die Krankheiten der Sorghumhirse in Deutsch-Ostafrika, p. 142.
Felt, E. P., 1903, 18th report of the State Entemologist on injuorions and other insects of the State of New York, 1902, p. 145.
Fernald, Mrs. Maria E., A catalogue of the Coccidae of the World, p. 146.
Ferraris, F., Il „Brusone" (Feuerkrankheit) del Riso e la „Piricularia Oryzae", p. 144.
Hiltner und **Störmer**, Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. p. 126.
v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie. I. Mitteilung, p. 130.
Keller, C., Beobachtungen über die Lebensweise des Arven-Borkenkäfers (Tomicus Cembrae Heer), p. 148.
Laubert, R., Ascochyta caulicola, ein neuer Krankheitserreger des Steinklees, p. 137.
Leonardi, G., Generi e specie di Diaspiti Saggio di sistematica delle Mytilaspides, p. 147.
—, Generi e specie di Diaspiti Saggio di sistematica delle Parlatoriae, p. 147.
Lüke, Weiteres zur Lyda-Kalamität, p. 148.
Magnus, P., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Pilze des Orients, p. 141.
Massalongo, C., Di un nuovo genere de Ditteri galligeni, p. 146.
—, Nuovi Zoocecidii della Flora veronese, p. 146.
—, Scopazzi di natura parassitaria osservati su piante di Pieris hieracioides, p. 146.
Meißner, Ernst, Accommodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze, p. 135.
Molliard, M. und **Coupin, H.**, Sur les formes tératologiques du Sterigmatocystis nigra privé de potassium, p. 144.
Muth, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden, p. 126.
Orlowski, S. F., Ueber die Wirkung des Arsens auf das Wachstum und die chemische Zusammensetzung von Aspergillus niger, p. 136.
Rosendahl, C. O., An new species of Razoumofskya Minnesota, p. 137.
Saccardo, P. A., Florae mycologicae Lusitanicae, p. 140.
de Stefani-Perez, T., Alterazioni tardive di alcune piante per influsso di insetti, p. 145.
—, L'Asterolecamium variolosum Rotz, p. 145.
—, Nuovi insetti galligeni e cecidi vecchi e nuovi, p. 146.
Sydow, H. und **P.**, Die Mikrosporen von Anthoceros dichotomus Raddi, Tilletia abscondita Syd. nov. spec., p. 137.
—, Beitrag zur Pilzflora des Litoral-Gebietes und Istriens, p. 139.
Vaney, C. und **Conte, A.**, Sur un Diptère (Degeeria funebris Mg.) parasite de l'Altise de la vigne (Haltica ampelophaga), p. 149.
Vestergren, Tycho, Zur Pilzflora der Insel Oesel, p. 139.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Gassert, Zur Bekämpfung der Kiefernschütte, p. 151.
Geucke, Wilhelm, Die Gemeingefährlichkeit der Baumschwämme und deren Bekämpfung, p. 152.
Kreuzpointner, J., Pflanzenkrankheiten und Universalmittel dagegen, p. 150.
Omeis, Th., Ueber die an der landwirtschaftlichen Kreisversuchsstation zu Würzburg ausgeführten Versuche und Untersuchungen bezüglich Bekämpfung der Peronospora viticola de By. (Blattfallkrankheit der Rebe), p. 150.
Rothenbach, Ein neues Verfahren zum Sterilisieren von Flüssigkeiten, p. 152.
Woernle, Schutz der Nadelholzpflanzen gegen Wildverbiß durch Umwickelung des Spitztriebes mit Draht, p. 153.

Neue Litteratur, p. 153.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin, Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. Jena, den 24. Juni 1904. No. 6/8.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien.

[Arbeit aus dem botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **Ernst Neide.**

Mit 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Bacillus teres A. M. et Neide.

Möglicherweise synonym: B. Globigii, synonym mit B. mesentericus ruber (Globig, Zeitschr. f. Hyg. 1888. Bd. III. p. 323. — Tataroff, Die Dorpater Wasserbakterien. In.-Diss. Dorpat 1891. p. 21). — B. albolactis, synonym mit B. lactis albus (Löffler, Berl. kl. Wochenschrift. 1887.

p. 630). — Bact. tomentosum (Henrici, Beitr. z. Bakt. Flora d. Käses. Arb. aus d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe 1894. Bd. I. Heft 1. p. 40). — Bact. filiforme (Tils) Mig., synonym mit B. acillus filiformis (Tils, Bakt. Untersuchung der Freiburger Leitungswässer, Zeitschr. f. Hyg. 1890. S.-A. p. 17). — Bact. Pansinii, synonym mit Bacillus No. 3 Pansini (Bakt. Studien über den Auswurf, Virchows Archiv. 1890. Bd. CXXII. p. 439). — Gottheil setzt B. alboeactis und B. filiformis Tils möglicherweise synonym mit B. cohaerens.

Der Bacillus wurde von mir aus Kuhmilch, welche im sterilen Reagenzglas sauer geworden war, nach 8 Tagen auf der Gelatineplatte isoliert. Die saure Milch war vor der Uebertragung auf Gelatine 1½' lang abgekocht.

Sporen: Die normalen Sporen des B. teres sind cylindrisch walzenförmig mit abgerundeten Ecken und im allgemeinen abgeflachten, seltener mit konvexen Polenden (Fig. IV a, 1—6). Ausnahmsweise kommen ovoide und bohnenförmig gestaltete Sporenformen vor (Fig. IVa, 7—9). Die mittlere Länge beträgt 1,5 μ, die Breite 0,9 μ. Die größten Sporen sind 2,0 μ lang, 1,2 μ breit, die kleinsten 1,2 μ lang, 0,8 μ breit. Ungefärbt ist die Membran der Sporen an nicht fixiertem Material schwer zu erkennen.

Die Intine wird am besten mit Fuchsin v und Jodjodkalium s sichtbar. Sie ist verhältnismäßig breit, der Protoplast entsprechend schmal. Mit den Farbstoffen erkennt man an der Oberfläche der Sporen bisweilen kleine Höcker oder Warzen. Diese Eigentümlichkeit kommt auch an den Querschnittbildern zum Ausdruck. Dieselben, im allgemeinen rund, lassen mitunter einige Ecken ziemlich scharf hervortreten (Fig. IV a, 10). Nach Gram gefärbt zeigen die Sporen eine starke Exine und schmale, bisweilen schwer unterscheidbare Intine.

Keimung: Die Keimung der Sporen tritt nach ca. 7 Stunden ein. Sie erfolgt auf Dextroseagar ungleichmäßig und in langen Zwischenräumen. Noch 10—12 Stunden nach der Impfung mit 3—4 Wochen altem Sporenmaterial sind neben den jungen Stäbchen noch zahlreiche unausgekeimte, zum Teil noch mit Sporangienmembran umgebene Sporen vorhanden. Die Anschwellung der Sporen vor der Keimung ist nur eine geringe. Sie beträgt nach Länge und Breite nur wenige $^1/_{10}$ μ. Die Keimung erfolgt polar mit einseitigem Durchstoßen der Membran (Fig. IVb, 1, 2) oder äquatorial mit gleichfalls einseitigem Aufreißen der Sporenmembran (Fig. IV b, 3, 4). Es finden sich auch Sporen, in denen das Keimstäbchen vor der Keimung sich krümmt (Fig. IV b, 5) und dann auch zwischen Pol und Aequator gekrümmt austritt (Fig. IV b, 7). Einzelnen Sporenmembranen haftet die Sporangienmembran noch an.

Die Keimstäbchen (1-lang = 4,2 μ) werden bis 2-lang und 0,95 μ bis 1,1 μ breit. Auch kommen mehrfach 2-stäbige 1- bis 2-lange Stäbchen von normaler Breite mit noch anhaftender Sporenmembran vor. Im Verhältnis zur Sporenbreite erscheinen die Keimstäbchen schmaler als bei anderen Species. Die Membran ist ungefärbt gut sichtbar, an den Polen gewöhnlich flach konvex. Der Protoplast läßt ungefärbt Zellsaftvakuolen und hellere Stellen als Beginn der Glykogenbildung erkennen. Gefärbt erscheint der Protoplast homogen.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 14 Stunden nach der Aussaat des Sporenmaterials finden sich auf dem Agar viele Einzel- und Doppelstäbchen, meist 1-lang, 1- und 2-zellig und 0,95--1,1 μ breit. Daneben sind ziemlich zahlreich bis 20-lange, stäbige oder nur teilweise stäbige Fäden entwickelt (Fig. IVc, 1—3). Das Kondenswasser ist klar. Nach 20—24 Stunden sind die Einzel- und Doppelstäbchen vorherrschend. Neben 4-stäbigen Fäden kommen noch 3- bis 4-lange 2-zellige Fäden vor. Auch finden sich, außer den normalen, einzelne, involutionsartig angeschwollene 2-zellige Doppelstäbchen. Meist ist eine der Zellen keulen-, kürbis- oder flaschenförmig ausgebaucht und von ihrer Nachbarzelle durch eine zarte Membran getrennt (Fig. IVd, 1—6). Die Breite der normalen Stäbchen schwankt zwischen 1,0 und 1,2 μ, die der angeschwollenen stieg bis 1,5 μ. Auch in sonst normalen Fäden finden sich vereinzelt Stäbchen mit den eben erwähnten Abnormitäten. Die Membran der Stäbchen ist stärker als nach 14 Stunden, und an den Enden häufiger gerade wie konvex begrenzt. Der Protoplast hat stark Glykogen gespeichert. Volutanskugeln konnten nicht nachgewiesen werden. Im Kondenswasser befanden sich Einzel- und Doppelstäbchen und kürzere 3—4-stäbige Fäden. Während nach 36 Stunden nur die Anschwellungen der Stäbchen häufiger (Fig. IVd, 7) sind, finden sich nach 48 Stunden Einzel- und Doppelstäbchen ziemlich zu gleichen Teilen mit mehrstäbigen bis 10-stäbigen Fäden (Fig. IVe, 1). Die Stäbchen sind im Durchschnitt 1-lang und 1,3 μ breit, also breiter als nach 24 Stunden, und 1- bis 2-zellig. Neben den normalen Fäden kommen aber auch häufig stark angeschwollene Fäden vor (Fig. IVe, 4—7), in denen die Stäbchen kurz und kugelig oder ungleichmäßig ½- bis 1-lang septiert waren. Ausnahmsweise finden sich 20-lange, 4-stäbige und unregelmäßig in 2—6 Zellen septierte Fäden (Chlorzinkjod). Im oberen Drittel der Agarkoloniee sind hauptsächlich Sporangien gebildet. Die Länge der normalen Einzelsporangien beträgt im Durchschnitt 4,2 μ, die Breite 1,1 μ bis 1,4 μ. In den angeschwollenen Stäbchen der Fäden sind die entsprechenden Maße 1,8—2,0 μ, so daß Längen- und Querdurchmesser bisweilen ganz gleich erscheinen. Im mittleren Drittel der Kolonieen sind die Sporenanlagen noch weniger zahlreich. Die Sporen sind in den normalen Einzel- und Doppelsporangien ganz vorwiegend endständig, seltener mittelständig.

Die Lage der Sporen ist meist regelmäßig, parallel zu den Seitenwänden. Der Protoplast zeigt mit der zunehmenden Reife der Sporen abnehmenden Glykogengehalt. Das Kondenswasser ist fast ganz klar und von einer dünnen, lose gefügten Kahmhaut bedeckt. Diese enthielt hauptsächlich 1—2-zellige, 1- bis 2-lange Einzelstäbchen. Außer Doppelstäbchen kamen aber auch bis 20- und mehrstäbige Fäden vor, deren Stäbe durchgängig oder gruppenweise 3—4 Sporen trugen. Nach 3 Tagen. Die weitere Entwickelung der Stäbchen und Fäden nach 48 Stunden bis zum Auftreten freier Sporen erfolgt verhältnismäßig langsam. Allmählich entstehen in allen kräftigen Stäbchen Sporenanlagen. Die reifen

Sporen bleiben jedoch lange Zeit von den Sporangienmembranen umgeben. Im allgemeinen verkürzen sich in der Zeit von 48—72 Stunden die Fäden und werden meist 4-stäbig und 1- und 2-zellig, seltener bis 4-zellig. Nach 5 Tagen fanden sich neben wenig freiliegenden Sporen wieder viele bis 15-stäbige Fäden. Ihre Stäbchen gaben zwar noch die Glykogenreaktion, waren aber bereits in der Degeneration begriffen oder zeigten mehrfach Involutionsformen (Fig. IVe, 15, 16). Auch traten bis 8-lange Fäden ohne Septierung auf (Chlorzinkjod). Die eigentliche Entwickelung von Spore zu Spore bedarf nach dem Vorausgehenden 45—55 Stunden.

Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. Nach 14 Stunden sind ganz vorzugsweise 1- und 2-zellige Einzelstäbchen, demnächst Doppelstäbchen, meist 1-zellig, weniger 2-zellig, gebildet. Fäden von der Länge, wie sie auf Dextroseagar vorkommen (Fig. IVc 3), wurden nicht beobachtet. Jedoch kamen bis 4-lange 1-stäbige Fäden vor, welche bei Behandlung mit Jodjodkalium s sich nicht septiert zeigten. Nach Färbung mit Methylenblau 1 + 10 und nachfolgender Entfärbung mit 1-proz. Schwefelsäure treten jedoch deutlich Septierungen hervor. Die Membran der Stäbchen ist dick. Der Protoplast enthält Glykogen. Die Volutinreaktionen fallen negativ aus. Auffallend ist die geringere Breite der Stäbchen 0,8—0,9 μ gegen 1,0—1,2 μ auf Dextroseagar (Fig. IVf 1). Nach 24 Stunden waren hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen vorhanden, nur wenige bis 8-stäbige Fäden. Die Fäden hatten stark Glykogen gespeichert. Nach 36 Stunden fanden sich fast ausschließlich Einzel- und Doppelsporangien und nur wenige bis 8-stäbige Fäden, deren Stäbchen teilweise Sporenanlagen enthielten. Das Kondenswasser war klar, mit einem feingekörnten weißen Niederschlag, und enthielt 2—8-stäbige Fäden, teilweise mit Sporen versehen, sowie Einzel- und Doppelstäbchen. Die Entwickelung von Spore zu Spore auf Agar ohne Dextrose ist somit eine wesentlich beschleunigte gegenüber derjenigen auf Dextroseagar.

Die Beweglichkeit. Die Beweglichkeit des B. teres auf Dextroseagar ist nur eine mäßige. Nach der Keimung sind die Stäbchen ohne jede Bewegung. 10—12 Stunden nach der Impfung beobachtet man wenige Einzel- und Doppelstäbchen in langsamer Vorwärtsbewegung. Nach 20 Stunden sind die Stäbchen auf Agar bewegungslos, während sie im Kondenswasser von 14 bis 48 Stunden mäßige Bewegung zeigen. Anscheinend steht die konsistente, fast speckschwartenartige Beschaffenheit der Agarkolonie auf Dextroseagar der Entwickelung der Begeißelung hemmend im Wege. Der Versuch, durch Umimpfung des Stäbchenmateriales auf Agar ohne Dextrose die Beweglichkeit zu erhöhen, ergab nach 8maligem Ueberimpfen von 12 zu 12 Stunden bei abwechselnder Zimmer- und Brutschranktemperatur von 28° keine Zunahme der Bewegung. Die Geißelfärbung gelingt schon infolge der beschränkten Anzahl überhaupt beweglicher Stäbchen nicht leicht. Die Begeißelung ist peritrich. Die Geißeln sind nicht sehr zahlreich — bis zu 11 wurden an Einzelstäbchen gezählt — zart und

kurz (Fig. IV c 4). Auch fanden sich Stäbchen, welche die Geißeln nur im Anfangsstadium zeigten. Zur Färbung wurde das Präparat 5′ gebeizt und nach dem Erhitzen des Farbstoffes bis zum Dampfaufsteigen 5′ stehen gelassen.

Agarstrich. 14 Stunden nach der Aussaat des Sporenmaterials markiert die Kolonie sich als bläulich weißer, feinkörniger Belag. Nach 24 Stunden ist sie glasig hellgrau, porig, speckschwartenartig, auf dem Nährboden festsitzend, mit der Platinnadel sehr schwer abzunehmen. Nach 48 Stunden zeigt die Kolonie im oberen Teile ein grauweißes Aussehen, im unteren Teil das des Agars. Sie ist etwas mehr glänzend wie in der ersten Zeit, aber trocken, mit kleinen Vertiefungen und Falten. Nach 3—4 Tagen wird sie oben glänzender und weißer, unten etwas weicher und mit der Nadel nur wenig leichter abnehmbar. Das Kondenswasser bleibt klar, feine auf dem Kondenswasser gewachsene Häutchen liegen auf dem Boden. 6—8 Wochen alte Kolonieen sehen wenig verändert aus. Das Material läßt sich mit der Nadel ohne Stückchen des Nährbodens kaum abnehmen.

Agarstich. Nach 4 Tagen, bei Zimmertemperatur, war auf der Oberfläche eine Kolonie von der Farbe des Agars entwickelt, welche von der Einstichstelle aus konvex in das Nährsubstrat hineinwuchs. Nach 14 Tagen hatte sich die nunmehr weißlich erscheinende Kolonie durch die ganze Breite der Agarsäule ausgebreitet, in einer Tiefe von 2 mm, nach 4 Wochen von 4 mm.
Gelatineplatte. Nach 3—4 Tagen bei Zimmertemperatur bemerkt man makroskopisch meist mehreckig gestaltete Kolonieen, deren Ecken unterschiedlich stark in die Gelatine ragten. Der Rand war nicht glatt, sondern leicht umhaart. Mikroskopisch erschienen die Kolonieen schwarzgrau mit rauhem Rand. Die hochliegenden hatten weniger, die tiefliegenden mehr, ganz vereinzelte, gekrümmte, fadenförmige Ausläufer, bisweilen auch die tiefliegenden kleine, buschartige Ansätze. Fast alle Kolonieen wichen von der runden Form ab, waren eingeschnürt oder eingekerbt und zeigten am Rande häufig krause, kurzgelockte Begrenzung. Nach 14 Tagen war bei wenig Material auf der Platte eine Verflüssigung noch nicht eingetreten. Bei viel Material hatte sich die Gelatine völlig verflüssigt. Die Kolonieen schwammen noch in ihrer ursprünglichen Form in der Flüssigkeit.

Gelatinestich. Nach 4 Tagen war auf der Oberfläche eine weißgraue Kolonie, im Stich eine bis zum Boden reichende weiße Kolonieenreihe gewachsen. Diese glichen der Form den auf der Gelatineplatte beschriebenen Kolonieen. Nach 8 Tagen hatten sich auf der Oberfläche selbständige, hellgraue, nebeneinanderliegende Kolonieen entwickelt, während die Kolonieen im Stich sich flockenartig vergrößert hatten. Nach 14 Tagen zeigte sich die Gelatine oben in der ganzen Breite des Reagenzröhrchens verflüssigt. Die Flüssigkeit war klar. In der Mitte hatte sich ein Schlauch eingesenkt, dessen Wände inwendig völlig mit einer weißen zusammenhängenden Kolonie bekleidet waren. Nach 4 Wochen war die ganze Gelatinesäule verflüssigt und bis zur Hälfte mit einer dicht

zusammengeballten, ganz weißen Kolonie angefüllt. Kartoffelscheibe. Nach 2—3 Tagen erschienen hellbraune, trockene, im Inneren reliefartig vertiefte, scharfgerandete Kolonieen, die nach 6—8 Tagen zu einer mit zahlreichen Furchen versehenen Kolonie zusammenwuchsen. Nach 14 Tagen bedeckt die Kolonie die Hälfte der Scheibe. Sie bestand vorzugsweise aus Doppel- und Einzelsporangien nebst freien Sporen. Nach 4 Wochen war das Aussehen der Kolonie wenig geändert. Möhrenscheibe zeigte trotz mehrmaligen Impfens und trotz mehrfachen Wechsels des Nährsubstrats kein Wachstum.

Entwickelungsgang in Nährlösung.

B. teres keimt in Nährlösung Vα. Nach 2—3 Tagen waren meist Einzel- und Doppelstäbchen, und bis 6-stäbige Fäden, nach 14 Tagen bis 20-stäbige Fäden vorhanden, deren Stäbe bis 4-zellig, manchmal stark angeschwollen waren und Involutionsformen bildeten (Fig. IVe 6, 7). Dazwischen lagen einzelne verkümmerte, bis 40-lange Fäden, regelmäßig und unregelmäßig, teilweise gar nicht septiert (Chlorzinkjod).

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen nach 4-wöchentlicher Entwickelung bei 28°. N.L. 0 und I: Kein oder nur schwaches Wachstum. Es wurden 3mal zu verschiedener Zeit angefertigte Nährlösungen je 2mal nach je 4 Tagen mit Stäbchenmaterial geimpft. Nur einmal schien Wachstum einzutreten. Nach 14 Tagen fand sich nur ganz geringe Entwickelung. II: Lösung leicht getrübt, hellbraun, mäßiger Niederschlag. Hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen, dazwischen einzelne bis 20-lange Fäden. III: Lösung wenig getrübt. Einzelstäbchen vorherrschend. Vereinzelte lange Fäden bis 30- und mehrstäbig, auch mit 5- bis 8-langen, mehrfach, aber ungleichmäßig septierten Fäden. Starke Glykogenspeicherung. IV. Lösung trübe. Dichter Niederschlag, der sich beim Schütteln leicht auflöst. 2—10-stäbige, 1—2-zellige Fäden mit nicht so starker Speicherung von Glykogen wie in III. Auch einzelne bis 9-lange, 1—3-mal septierte Fäden. Stark alkalisch. V: Lösung trübe, Niederschlag mehr flockig als bei IV. Viel Doppelstäbchen, wenige bis 8-stäbige 1- und 2-zellige bis 4-lange Fäden. Vereinzelt bis 9-lange und wie bei IV manchmal nur 1 bis 3mal septierte Fäden (Fig. IVc 3). Stark alkalisch. Vα: Lösung klar. Am Rande schleimiger Belag der Glaswand, unten flaumiger, leicht sich auflösender Niederschlag. Vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, 1- bis 2-zellig. Viel Glykogen. Auch bis 10-stäbige, 1- und 2-zellige Fäden, deren Stäbe involutionsartig angeschwollen waren (Fig IVd 4—6). Alkalisch. Vδ: Lösung und Schleimrand an der Glaswand wie vor. Einzel- und Doppelstäbchen und bis 10-stäbige Fäden, sämtlich weniger angeschwollen, weniger Glykogen und stärker alkalisch wie in Vα. VI: Lösung klar, mit weißem, feinem, schäumigem Niederschlag, der sich beim Schütteln feinflockig verteilt. Dicke, fast durchgängig angeschwollene Einzel- und Doppelstäbchen und in der Minderzahl bis 12-stäbige, 1—2-zellige Fäden. Alkalisch. IX: Aussehen der Lösung wie vor. Auffallend lange, bis 100 und mehrstäbige, in den einzelnen Stäbchen scharf durch breite Abstände getrennte Fäden mit ungewöhnlich starker Glykogenspeicherung, so daß sämtliche Zellen tief rotbraun erscheinen. Dieselbe Erscheinung findet sich schon nach 14-tägiger Entwickelung. Die Involutionsformen sind sehr mannigfaltig. (Fig. IId 4—6). X: Lösung sehr trübe, mit auffallend starkem, wolkigem, gelbweißem Niederschlag. Am Glasrand hatte sich nach 14 Tagen ein sahniger, gelblicher Rand gebildet, der nach 4 Wochen dünn angetrocknet war. 2—14-stäbige Fäden, deren Stäbchen an den Enden vielfach abgerundet, bisweilen auch ovoid oder kegelförmig gestaltet sind. Sehr viel Glykogen. In keiner der Nährlösungen wurde nach 14 Tagen oder nach 4 Wochen Sporen oder Sporangienbildung beobachtet. Keine Entwickelung in 0, I, Vβ, Vγ, VII, VIII, in 0 und I ganz gering.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
0—1	0—1	0—2	2	3	3	4	0	0	3	2	0	0	2	4	0

Alkalibildung. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm N.L. IV = 0,6 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure. Nach einer Entwickelung bei 28° Alkalibildung in N.L. IV 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 3,74 ccm $^1/_{10}$-N.Schw., 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 4,95 ccm $^1/_{10}$-N.Schw., 3) nach 4 Wochen 10 ccm = 4,7 ccm $^1/_{10}$-N.Schw.

Reservestoffe: Glykogen. Kein Volutin. Diastasebildung: in N.L. IV vorhanden. Gasbildung findet nicht statt. Gelatine wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 16′. Entfärbungszeit der Gramfärbung: 1 St. 15—30′.

Beziehungen des Bacillus teres zu Bacillus cohaerens. Beide Bacillen haben Aehnlichkeit in folgenden Punkten:

1) In der Glykogenbildung und dem Fehlen des Volutin. 2) In der Sporenform. 3) Beide entwickeln auf Dextroseagar lange, oft nur wenig septierte Fäden. 4) In der langsamen Entwickelung von Spore zu Spore. 5) In der langsamen Verflüssigung der Gelatine, in dem Mangel an Wachstum im Agarstich, in der geringen Beweglichkeit der Stäbchen auf Dextroseagar.

Beide Bacillen zeigen folgende Verschiedenheiten:

1) Die Sporen des B. teres sind im Verhältnis der Breite zur Länge breiter, 0,9 : 1,5 μ gegen 0,9 : 1,95 μ bei B. cohaerens Die Sporen des B. teres haben einen kleineren Protoplasten, und an der Membran Höcker und Warzen. 2) Die Keimung des B. teres ist ebensowohl äquatorial wie polar, nicht bipolar. B. cohaerens keimt vorherrschend polar und bipolar. 3) Die Anschwellung der Sporen des B. teres vor der Keimung ist gering, bei B. cohaerens stark. 4) Die Sporen des B. teres sind ganz vorwiegend endständig, die des B. cohaerens mittelständig. 5) In den einzelnen Entwickelungsstadien sind bei B. teres hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen neben den Fäden vorhanden. Die Fäden erreichen überdies nicht die außergewöhnliche Länge des B. cohaerens. 6) B. teres hat von 20-stündiger Entwickelung an auf Dextroseagar eigentümliche Involutionsformen, welche bei B. cohaerens fehlen (Fig. IV d 2, 4—6). 7) B. teres zeigt keine oder nur sehr schwache Entwickelung in N.L. 0, I, Vβ, Vγ, in welchen B. cohaerens gut gedeiht, dagegen Entwickelung in III, VI, IX, in welchen B. cohaerens nicht wächst. 8) B. teres ist fakultativ anaërob, B. coh. aërob. 9) Die Agarstrichkolonie des B. teres ist stets leder- und speckschwartenartig, festsitzend, die des B. cohaerens weich, leicht abnehmbar.

Die wichtigsten Merkmale der Species B. teres A. M. et Neide.

Spore: Sporengröße im Durchschnitt 1,5 μ lang, 0,9 μ breit. Die normalen Sporen sind walzenförmig cylindrisch (Fig. IVa 1—6), selten ovoid und bohnenförmig (Fig. IVa 7—9). Die Sporenmembran ist meistens ohne Reagens nicht sichtbar, hat Höcker und Warzen und läßt Exine und Intine am besten mit Fuchsin v und Jodjodkalium s erkennen. Die Sporen schwellen vor der Keimung

nicht stark an (Fig. IVa 11). Die Keimung erfolgt polar und äquatorial unter einseitigem Aufreißen der Membran. Die Keimstäbchen werden bis fast 2-lang und 0,95—1,1 μ breit. Auf Dextroseagar erfolgt bei 28° die Keimung nach 7 Stunden und dauert bis 12 Stunden. Nach 14 Stunden bei 28° viele Einzel- und Doppelstäbchen 1-lang, 0,95—1,1 μ breit. Daneben ziemlich zahlreich bis 20-lange, stäbige und unstäbige Fäden. Nach 20—24 Stunden vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, neben 3- bis 4-langen, 2-zelligen Fäden. Involutionsformen: Die Stäbchen 1,2 — 1,5 μ breit, mit viel Glykogen. Nach 48 Stunden im oberen Drittel der Kolonie zahlreiche Sporangien. Die Sporen endständig, selten mittelständig (Fig. IVe 8—14). Nach 3 Tagen wenig freie Sporen. Die Sporen behalten die Sporangienmembran lange bei. Schwärmzustand auf Agar von 14—20 Stunden, langsame Bewegung. Im Kondenswasser ist sie lebhafter von 14 bis 48 Stunden (Fig. IVc 4), sehr lebhaft im Kondenswasser des Agars ohne Dextrose. Die Intensität des Wuchses in N.L. 0, I, II, Vβ, Vγ = 0—1, VI und IX = 2 ist charakteristisch. Agarstrichkultur: Nach 24—48 Stunden bei 28° ist eine dicke, glasig hellgraue, porige Kolonie entwickelt, welche auf dem Nährboden speckschwartenartig fest aufsitzt. Möhrenkultur: Kein Wachstum. Kartoffelkultur: Nach 14 Tagen reliefartige Bedeckung der Kartoffelscheibe mit hellbrauner, trockener Kolonie, vorzugsweise aus Einzel- und Doppelsporangien, sowie Sporen bestehend. Alkalibildung findet besonders stark in N.L. IV und V, weniger stark in Vα, Vδ und VI statt. Reservestoffe: Glykogen. Diastasebildung ist in N.L. IV vorhanden. Gasbildung fehlt. Gelatine wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100° 16′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol 1 St. 15—30′.

Bacillus lacticola A. M. et Neide

Sehr wahrscheinlich synonym: B. lactis Flügge V (Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 299). — Möglicherweise synonym: B. goniosporus (Burchard, Beitr. zu Morph u. Entw.-Gesch. d. Bakterien. In.-Diss. 1897. Arb. aus d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe 1898. Bd. II. Heft 1. p. 14). — B. lacteus (Lembke, Weiterer Beitrag zur Bakterienflora d. Darmes. Arch. f. Hyg. Bd. XXIX. 1897. p. 323). — B. aureus (Pansini, Bakt. Studien über den Auswurf. Virchows Arch. Bd. XXII. 1890. p. 436). — B. butyricus (Hueppe, Mitteil. ausdem K. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884. p. 309).

Der Bearbeitung liegt die, durch den Herrn Autor in größter Freundlichkeit mir überlassene Originalkultur des Bac. lactis Flügge V zu Grunde. Die Kultur war mir allerdings mit der Bemerkung übersandt, daß für ihre Identität mit der ursprünglichen nicht eingestanden werden könne. Da schon ein Bacillus lactis Flügge mit dem Autornamen von uns beibehalten worden ist, so müssen wir hier den Namen ändern, und wollen den Namen, den schon Migula über die Abschrift der Diagnose von Flügge setzte, benutzen. (Migula, p. 305.)

Die Sporen. Die normale Sporenform ist cylindrisch stäbchenförmig, mehr mit konvexer, als mit gerader Polbegrenzung (Fig. Va 1—8). An gefärbten oder mit Safranin behandelten Präparaten beobachtet man mehrfach kleine Spitzen an den Polen, welche nicht genau in der Mittelachse der Spore stehen, sondern etwas seitwärts gerückt sind. Die Art der Spitzenstellung erinnert etwas an die Spore des Bac. tumescens, ist jedoch bei weitem nicht so ausgeprägt (Fig. Va 6—8). Neben dieser normalen Form findet sich auch eine elliptische, an einem oder an beiden Enden mäßig zugespitzte (Fig Va 9, 10, 11), bisweilen auch eine bohnenförmige Form (Fig. Va 12, 13, 14). Exine und Intine sind auch bei wochen- und monatealten Sporen nicht zu unterscheiden. Doch ist in allen Fällen die Membran zu erkennen, die sich besonders mit Safranin scharf als ziemlich dünne Linie abzeichnet. Bei der Färbung nach Gram erscheint die Membran fast mittelstark. Die Intine wird hierbei bisweilen sichtbar (Fig Va 16) und hat dann ungefähr die Breite der Exine. Die Spitzchen an den Polen treten deutlicher auf. Auch beobachtet man mehrfach über der Mitte einen dunkleren Strich, der mitunter über die ganze Länge der Spore sich hinzieht. Dieser tritt auch bei Färbung mit anderen Reagentien, namentlich mit Methylenblau auf, aber nicht so scharf. Ueberhaupt erscheint die Oberfläche der Sporen nicht ganz glatt, sondern mit kleinen Knötchen und Warzen versehen. Der Querschnitt ist daher nicht immer kreisrund (Fig. Va 15). Die Sporen sind relativ groß. Normal haben sie eine Länge von 2,0 μ eine Breite von 0,75 μ. Die größten sind 2,6 μ lang, 1,0 μ breit, die kleinsten 1,4 μ lang, 0,6 μ breit. Die Keimung. Vor der Keimung schwellen die Sporen ziemlich bedeutend an (Fig. Va 17). Die Anschwellung erstreckt sich mehr auf die Breite, als auf die Länge und beträgt entsprechend 1,2 bis 1,3 μ zu 2,2 bis 2,5 μ.

Die Keimung erfolgt bei 28° auf Dextroseagar nach 7—8 Stunden. Sie ist vorwiegend polar mit einseitigem Durchstoßen der Membran (Fig. Vb 1, 2, 6). Etwa zu einem Sechstel wurde die polare Keimung mit beiderseitigem Durchstoßen der Endmembran beobachtet (Fig. Vb 3, 4). Nur einmal wurde eine äquatoriale Keimung gefunden (Fig. Vb 5).

Die Keimstäbchen. (1 lang = 3,5 μ). Im allgemeinen haftet die Sporenmembran nur vorübergehend den Keimstäbchen an. Man sieht deshalb ganz junge Keimstäbchen schon ohne Sporenmembran. Nur selten beobachtete ich septierte oder gestäbte Stäbchen noch mit derselben (Fig. Vb 6). Die Keimstäbchen werden nahezu 2 μ lang, 1,0 bis 1,2 μ breit. Ohne Reagens, mit Fuchsin und Methylenblau k und v sind die Keimstäbchen homogen. Jodjodkalium s zeigt Zellsaftvakuolen. Die Keimstäbchen sind an den Polen konvex begrenzt.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 12 bis 14 Stunden nach der Impfung befinden sich in der Kolonie hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen, weniger 3- bis höchstens 8-stäbige Fäden (Fig. Vc 4). Unter den Fäden bilden die 4-stäbigen, bezw. 2-stäbigen, 2-zelligen die Hauptmenge. Stäbchen und

Fäden sind in lebhafter Septierung und Teilung begriffen. Die Stäbe sind 1- bis 3-lang, 1- und 2-zellig. (Fig. Vc 1—3), im Ausnahmefalle 4-lang und 1-zellig (Chlor-Zink-Jod.) Die Breite beträgt 1,2 bis 1,3 μ, mit Methylenblau erscheinen sie etwas breiter. Die Membran ist ungefärbt und mit Fuchsin v oder mit Jodjodkalium s als dünne Linie zu erkennen. Methylenblau und Safranin lassen sie nicht hervortreten. Methylenblau k färbt den Protoplasten kräftig blau. Es treten häufig dicke Volutanskugeln auf. Nach 20—24 Stunden ist die Zahl der Einzel- und Doppelstäbchen ungefähr die gleiche mit derjenigen der Fäden. Diese übersteigen die 8-Stäbigkeit höchst selten. Die Stäbchen sind durchschnittlich 1-lang und 1,4 μ breit, also breiter als in der vorigen Periode. Mehrfach sieht man in diesem Entwickelungsstadium kurze, kaum 1-lange Einzelstäbchen, von großer Breite, 1,8—2,0 μ (Fig. Vd 1—6). Die Zellen und Stäbchen enthalten jetzt meist sehr große Fettkugeln. Nach 36 Stunden hat das Stadium der Sporenanlage bereits begonnen. Ganz vereinzelt findet sich schon eine freie Spore. Die Zahl der Fäden ist gegenüber den Einzel- und Doppelstäbchen im allgemeinen eine größere geworden. Am meisten vertreten sind die 4-stäbigen Fäden, mit 1- bis 2-zelligen und 1-langen Stäben, demnächst die 6- bis 8-stäbigen Fäden, deren Stäbe meist nur 1-zellig sind. Fäden, deren Stäbe sämtlich schon Sporenanlagen enthalten, sind noch selten (Fig. Ve 1—4). Nach 48 Stunden sind sehr viel freie Sporen neben fast gleichviel Sporangien vorhanden. Die noch in der Entwickelung begriffenen sporenfreien Einzel- und Doppelstäbchen, sowie die Fäden sind fast ganz normal. Nur wenige nehmen abgerundete oder verbreiterte Formen an. Zwischen den Sporen, Stäben und Fäden lagern zahlreiche, dicke Kugeln. Sie färben sich mit Jodjodkalium s orangegelb mit dunkelrotem Rand, mit Sudan rot (Fettkugeln). Nach 3—4 Tagen. Die Entwickelung schreitet verhältnismäßig lange Zeit in ganz normaler Weise fort, so daß sich in diesem Stadium noch viele normale Sporangien in Einzel- und Doppelstäbchen, sowie in kürzeren Fäden vorfinden. Längere Fäden sind ganz selten. Abweichende Formen geben die Fig. Vf 1, 2. Da, wo die abweichenden Formen keine Sporenanlagen haben, sind zum Teil große Volutanskugeln und viel Fett vorhanden.

Beweglichkeit. Die Oidien beginnen auf Dextroseagar erst einige Zeit nach der Keimung, dann aber sehr lebhaft zu schwärmen. Der Schwärmzustand dauert bis zum Beginn der Sporenanlagen, im allgemeinen bis 36—40 Stunden nach der Impfung. Indes finden sich auch noch nach 48 Stunden einzelne Schwärmer. Im Kondenswasser dauert der Schwärmzustand noch bis 3—4 Tage nach der Impfung an. Die Begeißelung ist peritrich. Die Geißeln sind im Verhältnis zur Größe der Oidien zart, aber lang. Zur Darstellung genügt eine 3′ lange Beizung und eine ebensolange Färbung mit Säureviolett ohne Erwärmung (Fig. Vc 5).

Entwickelung auf Agar ohne Dextrose. Nach 14 Stunden sind wie auf Dextroseagar hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen, aber kürzer und nicht unwesentlich schmaler entwickelt;

1,0:1,25 μ (Fig. V g 1). Die Membran erscheint dick. Fett und Volutin ist nicht nachweisbar. Nach 24 Stunden fanden sich bereits Sporangien mit endständigen Sporen und zwar meist als Doppelstäbchen, weniger als Einzelstäbchen oder in kurzen Fäden (Fig. V g 2). Fett war in den mit noch nicht reifen Sporen versehenen Sporangien nur in geringen Mengen nachzuweisen, wenig mehr in den sporenlosen Oidien. Nach 36 Stunden bestand die Kolonie aus zahlreichen Sporen und Sporangien, letztere bis 10-stäbig und einzellig. Fäden, welche nicht durchgehend aus Sporangien zusammengesetzt waren, fanden sich selten. Alle Morphoden zeigten sehr normale Bildung. Nach 5 Tagen waren ganz vorherrschend Sporen vorhanden. Die wenigen 3—6-stäbigen Fäden zeigten normale Formen mit nur wenig alten Sporenanlagen. Im Kondenswasser hatten sich hauptsächlich Einzel- und Doppelstäbchen gebildet, dazwischen 4—8-stäbige Fäden, ausnahmsweise einzelne bis 14-stäbige. Neben zahlreichen freien Sporen fanden sich selten Sporangien. Die Entwickelung auf Agar ohne Dextrose zeigt mithin auch für B. lacticola gegenüber derjenigen auf Dextroseagar eine normalere Formbildung, geringere Reservestoffansammlung namentlich in Bezug auf Fett und Volutin und abgekürzteres Wachstum von Spore zu Spore.

Agarstrich. Die Kolonie ist nach 14 Stunden mattgrau, homogen, trocken, mit der Nadel leicht abnehmbar, aber wegen ihrer häutigen Beschaffenheit in Wasser schwer verreibbar. Das Kondenswasser ist getrübt. Nach 24 Stunden ist die Kolonie weißer, mattglänzend, glatt. Nach 48 Stunden nimmt die Kolonie ein fast porzellanähnliches Aussehen an. An den Rändern bildet sich ein schleimiger, gebuchteter Belag mit feinen Härchen. Das Kondenswasser ist trübe und zeigt ein dünnes Häutchen. Nach 4 Tagen wird die Kolonie etwas schleimiger. Es macht sich dies an der leichteren Verreibbarkeit des Materials in Flüssigkeiten bemerkbar. Auf Agar ohne Dextrose war die Kolonie nach 24 Stunden grauer, trockener und mehr häutig. Das Kondenswasser klar, mit geringem weißen Niederschlag. Nach 5 Tagen war der Belag ganz weiß, mattglänzend, das Kondenswasser etwas getrübt, mit geringem Niederschlag.

Agarstich. Nach 3 Tagen hatte sich bei Zimmertemperatur auf der Oberfläche des Agars ein wenig charakteristischer, Belag von 2—3 mm Durchmesser gebildet. Im Stich war bis zu 3 cm Tiefe eine sehr feinkörnige, nach unten spitz auslaufende Kolonieenreihe entstanden. Eine andere, bei 28° gehaltene Agarstichkolonie zeigte zum gleichen Zeitpunkt eine fettglänzende weiße Kolonie über die ganze Oberfläche. Im Stich reichte ein streifige, feinpunktierte Kolonieenreihe bis auf den Grund des Agarröhrchens. Nach 4 Wochen war auf dem Agarstich bei Zimmertemperatur, dicker, milchweißer glänzender Belag mit erhabenem Rand entstanden. Im Stich hatte sich die Kolonieenreihe röhrenartig, mit kleinen feinen Ausbuchtungen bis auf den Boden des Glases entwickelt.

Gelatineplatte. Nach 3 Tagen treten makroskopisch

feine, körnige, milchweiße Kolonieen auf. Mikroskopisch sind dieselben rundlich von verschiedener Gestalt, oval oder elliptisch, mit Spitzen und Ausbuchtungen, graubraun. Es sind 2—4-stäbige normale Fäden gebildet, ohne erkennbare Reservestoffe. Nach 6 Tagen sind viel 4—8-stäbige Fäden entwickelt, mit 1—2-langen normal breiten Stäbchen und reichlicher Fett- und Volutinspeicherung. Die Kolonieen zeigen stärkere Aus- und Einbiegungen. Nach 8 Tagen begann die Gelatineplatte bei viel aufgetragenem Sporenmaterial zu verflüssigen. Die Kultur riecht nach Buttersäure.

Gelatinestich. Nach 3 Tagen war im Stich bis auf den Boden des Reagenzglases eine sehr fein gekörnte Kolonieenreihe, an der Einstichöffnung eine kaum bemerkbare Kolonie gewachsen. Nach 6 Tagen hatten sich die Kolonieen im Stich kugelförmig erweitert und stellten eine aneinander gereihte Perlenschnur dar. Die Oberflächenkolonie sah weiß, saftig glänzend aus und begann in die Gelatine einzusinken. Nach 10 Tagen hatte sich eine schlauchartige Vertiefung gebildet. Nach 5 Wochen war bei höherer Zimmertemperatur die Gelatinesäule in ihrer ganzen Höhe verflüssigt. Zu beiden Gelatinekulturen ist zu bemerken, daß die Gelatine sehr zäh und gegen Temperatureinwirkung so resistent war, daß sie bei 23° noch fest blieb.

Kartoffelscheibe. Auf der Kartoffel zeigte B. lacticola ein gutes Wachstum. Nach 3 Tagen begann sich eine grau-violette, häutige Kolonie über die ganze Scheibe auszudehnen. In der folgenden Zeit wurde die Farbe gelblicher, erschien aber immer noch trocken. Nach 3 Wochen war die Kolonie graugelb, uneben und trocken, aber mit der Nadel leicht abzunehmen und zu verreiben. Es sind ganz vorherrschend 4- bis 10-, auch mehrstäbige Fäden gebildet, deren Stäbe 1- bis 2-lang und normal breit und ziemlich fettreich sind.

Möhrenscheibe. Die Kolonie entwickelte sich anfänglich auf der Möhrenscheibe bei Zimmertemperatur nur schwach. Es treten auf verschiedenen Scheiben nur wenige glasige, beim Abstreifen mit der Nadel weißlich werdende Kolonieen auf, die vorherrschend aus Sporen, daneben aus 1- bis 4-stäbigen, vielfach degenerierten Fäden bestanden. Eine mit viel Sporenmaterial beschickte und bei 28° im Brutschrank befindliche Möhrenscheibe zeigte dagegen nach 3 Tagen einen weißen, trockenen Belag, der sich über die ganze Möhrenscheibe ausdehnte. Von da an, bei Zimmertemperatur gehalten, wurde der Belag nach 16 Tagen weich, mattglänzend. Die Kolonie enthielt meist anormale, involutionsartig angeschwollene, 2- bis 4-stäbige Fäden, weniger 1-stäbige, 1- bis 2-lange Sporangien und freiliegende Sporen. Die Zellen der Fäden waren völlig mit Fett angefüllt. Auch sah man viele Fettkugeln außerhalb der Zellen.

Entwickelungsgang in Nährlösungen:

B. lacticola keimt in N.L. I und Vα. In N.L. I: Die Flüssigkeit nach 48 Stunden leicht getrübt. Auf dem Boden dicker, wolkiger Niederschlag. Bewegliche normale Einzel- und Doppelstäbchen und vereinzelte längere Fäden. Kleine Fettkugeln neben vielen Volutanskugeln. Nach 14 Tagen finden sich bis 60-lange, fein septierte Fäden, mit wenig Fett ohne Volutanskugeln, degenerierte

Formen, auch vielfach Reste in Auflösung begriffener Stäbchen und Fäden, sowie freiliegende Sporen. Sporangien seltener. Nach 4 Wochen ist die Zusammensetzung der Kultur wenig geändert. Kein Alkali.

In N.L. Vα ist das Wachstum anfänglich schwach. Nach 4 Tagen die Lösung klar, mit einem kleinflockigen Niederschlag. Einzel- und Doppelstäbchen und bis 12-stäbige Fäden ohne Involutionsformen, teilweise Sporenanlagen und einzelne freie Sporen. In den nächsten Tagen nehmen die Sporenbildungen zu. Einzel- und Doppelstäbchen in langsamer Bewegung. Nur wenig kürzere Fäden. Nach 14 Tagen meist wenig kräftige, bisweilen angeschwollene Stäbchen und fast plasmaleere Fäden, mit geringer Fettspeicherung und ohne Volutanskugeln. Viel freie Sporen. Stark Alkali. Nach 4 Wochen ist die Kultur in ihrer Zusammensetzung wenig geändert. An der Oberfläche der Lösung hat sich ein feiner, ganz weißer Rand gebildet, der Niederschlag ist dünn und haftet fest am Boden.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen. B. lacticola ist einer der wenigen Bakterien, der in allen Nährlösungen, bis auf XI Wachstum zeigt. Nach 4-wöchentlicher Entwickelung bei 28°: N.L. 0: Lösung klar, mit dünnem Häutchen, das beim Berühren herabsinkt. Dicker häutiger Niederschlag. Nach dem Schütteln sammelt er sich sofort wieder auf dem Boden. 2- bis 3-lange Stäbchen in Bewegung, hauptsächlich bis 120-stäbige Fäden, mit normalen, scharf abgesetzten 1- bis 2-zelligen Stäbchen mit Fett- und Volutanskugeln. Freiliegende Sporen. Alkalibildung. I: vgl. Entwickelungsgang. II: Lösung schwach getrübt, oben mit einem hellbraunen Rand an der Glaswand und mit dickem, flockigem Niederschlag. Vorzugsweise bis 100- und mehr lange, wenig geschwungene, degenerierte, nur 0,4—0,7 μ breite, selten septierte Fäden. Daneben meist angeschwollene Einzel- und Doppelstäbchen mit größeren Fettkugeln, aber nur schwach nachweisbaren Volutanskugeln. Auch freie Sporen und vielfach freie Fettkugeln. Saure Reaktion. III: Lösung klar, oben mit dünnem, körnigem Rand und mit dünnem, hellgrauem Niederschlag. Einzelstäbchen, meist 1-zellig, Doppelstäbchen und bis 4-stäbige Fäden, mit großen Volutanskugeln, wenig Fett und schwach sichtbarer Membran. Viel freie Sporen, darunter einige recht lange (Fig. Vα 7, 13). IV: Lösung klar. Oben am Rande feiner, weißkörniger Ring, dünner, fest aufsitzender, sedimentartiger Niederschlag, der sich beim Schütteln auflöst. Lebhaft bewegliche, 1- bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen und viele sehr lange Fäden, zum Teil von normaler Breite, normal gestäbt und septiert, zum Teil wie in II. Unter den Einzel- und Doppelstäbchen viel degenerierte. Die freien Sporen ziemlich zahlreich. Starke Alkalibildung. V: Lösung klar mit wolkigem, dichtem Niederschlag und mit weißgelbem Ring am oberen Rande. Nach dem Schütteln trübt sich die Lösung auffallend stark. Ganz vorherrschend sind Einzel- und Doppelstäbchen und bis 4-stäbige Fäden, deren Stäbe 1- bis 2-zellig sind. Die Doppelstäbchen und Fäden vielfach gekrümmt, etwas breiter als normal und mit viel Fett. Daneben viele bis 120- und mehrstäbige Fäden, deren Stäbe 1- bis 3-lang, in sich aber gleichmäßig und 0,75 μ breit waren, wie in N.L. 0. Volutanskugeln nicht beobachtet. Starke Alkalibildung. Vα: vgl. Entwickelungsgang. Vβ: Lösung leicht getrübt. Häutiger, ganz weißer Niederschlag, oben mit feinem Rand. Vorherrschend Einzelstäbchen, teilweise in langsamer Bewegung, dann Doppelstäbchen und lange Fäden, wie in IV, aber auch 8—25-stäbige Fäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang, angeschwollen, aber auch mehrfach siech sind. Die langen Fäden haben eine Breite von 0,75 μ. Die Stäbchen mit Fett und Volutanskugeln sind im allgemeinen kräftiger als in Vα. Alkalibildung. Vγ: Lösung klar, flockiger Niederschlag, der sich beim Schütteln leicht auflöst. Mehr 6—15-stäbige Fäden, wie in Vβ und weniger 1- bis 3-lange Einzelstäbchen. Alkalibildung. Vδ: Lösung klar und häutiger, aus kleinen kurzen Blättchen zusammengesetzter Niederschlag. Oben weißer körniger Rand. 2- bis vorherrschend 4-stäbige, selten lange Fäden. Die Einzelstäbchen, wie die Stäbchen der Fäden meist unförmig angeschwollen, mit ungewöhnlich großen Fetttropfen (Fig. Vh 1, 2). Fett. Alkali. VI: Lösung klar, mit flockigem, leicht sich auflösendem und leicht die Lösung trübendem Niederschlag. 1- bis 3-lange Einzelstäbchen und 2–8-stäbige Fäden, selten Anschwellungen, meist schmaler als normal und wenig Sporen. Alkali. VII: Lösung klar mit geringem Niederschlag. Wenig normale Einzel- und Doppelstäbchen, zahlreiche Sporen. Alkali. VIII: Lösung klar, feinkörniger Boden-

belag, der sich beim Schütteln ohne Auflösung in der Flüssigkeit verteilt. Fast nur Sporen. Alkali stärker als in VII. IX: Lösung klar, oben mit weißem Rand, unten wolkiger Niederschlag, der die Flüssigkeit beim Schütteln milchig färbt. Hauptsächlich Einzelstäbchen, dann Doppelstäbchen und bis 6-stäbige Fäden, mit ziemlich starker Fettspeicherung und eiförmiger Anschwellung. Einzelne schmale, 4-lange, wenig septierte Fäden mit Fetttropfen. Sehr schwach Alkali. X: Klare Lösung, mit weißem, sahnigem Rand und mit dickem, aus kleinen Häutchen zusammengesetztem Bodenbelag, der sich nach dem Schütteln bald wieder senkt. Viele normale, 1- bis 2-lange, 1- und 2-zellige Einzelstäbchen mit großen Volutanskugeln. Auch konisch zulaufende dicke Doppelstäbchen mit starker Fettspeicherung. Bisweilen Involutionsformen. Schwach Alkali.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	4	1—2	2	3	2	2—3	1—2	2	1—2	1	1	1—2	3	0

Alkalibildung: erfolgt in N.L. 0, IV—X. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. N.L. IV 10 ccm = 0,6 $^1/_{10}$ Normalschwefelsäureentwickelung bei 28° in N.L. IV, 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 2,75 ccm $^1/_{10}$ N.Schw., 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 4,65 ccm $^1/_{10}$ N.Schw., 4) nach 4 Wochen 10 ccm = 2,8 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. Säurebildung: N.L. II gibt nach 8 Tagen, 14 Tagen und nach 4 Wochen mit Lackmuspapier saure Reaktion. Der Indikator Rosolsäure versagt indes bei der braunen Färbung der Nährlösung, so daß ein Titer nicht festgestellt werden konnte.

Reservestoffe: Fett und Volutin. Gasbildung fehlt. Diastasebildung: Schwach in N.L. IV. Die Gelatine wird verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100° 18′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28° 1 St. bis 1 St. 15′.

Die Beziehungen des B. lacticola zum B. Petasites und zum B. lactis Flügge.

Die von Flügge (1894, p. 294) gemachten Angaben können zur bestimmten Unterscheidung der Species von anderen nicht dienen. Die mir überlassene Kultur darf man aber mit B. lactis Flügge V identisch annehmen, da sie nur in Bezug auf das fakultativ anaërobe Wachstum Abweichungen zeigte. Vgl. Agar- und Gelatinestich.

I. Die Aehnlichkeit des B. lacticola mit dem B. Petasites beruht in der Sporenform, in der Fettbildung, sowie in dem Wachstum in fast allen Nährlösungen.

Abgesehen von den Unterschieden in der Sporenbreite, den verschiedenen Entwickelungszeiten auf Dextroseagar, den abweichenden Wuchsformen in den einzelnen Nährlösungen sind beide jedoch durch folgende Merkmale leicht zu unterscheiden:

1) B. Petasites hat kein Volutin. 2) B. Petasites bräunt den Agar vom 2. Tage an mit zunehmender Stärke. Die Kolonie wird gelblich, später rötlich. B. lacticola bräunt den Agar nie und behält auch in wochenalten Kolonieen stets ein weißes Aussehen.

II. Mit B. lactis Flügge stimmt B. lacticola in der Fett- und Volutinbildung überein, sowie in der cylindrisch stäbchenförmigen Gestalt der Sporen:

Abweichungen sind: 1) Die cylindrischen Sporen von B.

lactis Flügge sind im Durchschnitt breiter, 0,95 μ, nähern sich also mehr dem B. Petasites. Die ovalen Sporen kommen bei B. lacticola nicht vor. Exine und Intine sind an den Sporen von B. lactis Flügge zu unterscheiden, bei B. lacticola nicht. Die Membran des letzteren zeigt außerdem Höcker und Striche.

2) Die kurzen, dicken Stäbchen des B. lacticola nach 24 Stunden (Fig. V d 4), die Involutionsformen nach 4 Tagen (Fig. V f 1, 2) finden sich bei B. lactis Flügge nicht. Dieser zeigt vielmehr abgerundete oder konische Ausnahmsformen.

3) Die Entwickelungszeit von Spore zu Spore auf Dextroseagar ist bei B. lactis Flügge eine kürzere als bei B. lacticola. Bei jenem finden sich viel freie Sporen schon nach 38, bei diesem erst nach 48 Stunden. Die Sporangienmembran des B. lactis Flügge zeigt einen bemerkenswert rascheren Verfall.

4) B. lactis Flügge wächst im Gegensatz zu B. lacticola in N.L. IV und wächst nicht in Vβ und VIII. In III und V ist das Wachstum schwächer, in IX stärker. B. lactis Flügge bildet kein Alkali in Vα, Vδ, VI, VII, X, dagegen in I.

Die wichtigsten Merkmale der Species Bacillus lacticola A. M. et Neide.

Sporen. Sporengröße: 2,0 μ lang, 0,75 μ breit. Sporenform: normal cylindrisch (Fig. Va 1—8, elliptisch, Fig. Va 9—11). Die Sporenmembran ist ungefärbt und gefärbt zu erkennen, Exine und Intine nur in einzelnen Fällen bei der Gramfärbung zu unterscheiden. Die Sporen schwellen vor der Keimung mehr in der Breite, wie nach der Länge an (Fig. 5a 17). Die Sporenkeimung erfolgt vorwiegend polar, dann bipolar, ganz ausnahmsweise äquatorial (Fig. Vb 5). Die Keimstäbchen werden bis 2-lang und 1,0—1,2 μ breit. Auf Dextroseagar entwickeln sich bei 28° nach 12—14 Stunden vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, weniger 3- bis höchstens 8-stäbige Fäden (Fig. V c 1—4). Sie haben stark Volutin und Fett in sehr verschiedener Menge gespeichert. Nach 20—24 Stunden sind Einzel- und Doppelstäbchen ungefähr in gleicher Menge mit 4—8-stäbigen mit sehr viel Fett und Volutin vorhanden. Charakteristisch sind kurze 1,8—2,0 μ breite Einzelstäbchen (Fig. V d 3). Nach 36 Stunden sind meist 4-stäbige Fäden neben vielen Einzel- und Doppelsporangien gebildet. Die Sporenanlagen sind normalerweise endständig. Nach 48 Stunden freie Sporen. Abweichende Formen in dieser Zeit (Fig. V f 1). Die Begeißelung ist peritrich (Fig. V c 5). Das Wachstum in allen Nährlösungen, mit Ausnahme von N.L. XI ist charakteristisch. Agarstrichkultur: Nach 24 Stunden bei 28° ein weißer, fast porzellanartiger Belag, dessen häutige Beschaffenheit sich beim Verreiben in Wasser bemerkbar macht. Nach 48 Stunden hat das Kondenswasser ein leichtes Häutchen. Nach 4 Tagen wird die Kolonie etwas schleimiger und verreibbar in Wasser. Der Agar wird nicht gebräunt. Kartoffelscheibe: In den ersten 48 Stunden reichlicher, grauer, häutiger, später gelbwerdender Belag. Nach 3 Wochen besteht derselbe vorherrschend

aus 4—10 und mehrstäbigen Fäden. Möhrenscheibe: Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur nicht, bei 28° erst nach mehrmaligem Impfen. Nach 3 Tagen weißer, trockener Belag über der ganzen Scheibe. Nach 3 Wochen meist anormale, involutionsförmige Stäbchen, wenig 1-stäbige Sporangien und freie Sporen. Alkalibildung in N.L. 0 und IV—X in sehr verschiedenem Grade. Säurebildung findet in N.L. II statt. Reservestoffe: Fett und Volutin. Gasbildung fehlt. Diastasebildung: Schwach in N.L. IV. Die Gelatine wird verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 18′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 1 Std. bis 1 Std. 15′.

(Fortsetzung folgt.)

Bemerkung über den Bacillus methylicus.

Von **Oscar Loew**, Tokyo-Komaba.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit: „Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben" tadelt Omelianski[1], daß ich in meiner Beschreibung des Bac. methylicus[2]) nicht angegeben habe, ob bei den Kulturen mit ameisensaurem Natron eine Zunahme der Alkaleszenz beobachtet werde und Gasausscheidung stattfände. Diesen Tadel muß ich als unbegründet zurückweisen; denn jeder Bakteriologe muß wissen, daß wenn Kalium- oder Natriumsalze mit organischen Säuren als alleinige organische Nährstoffe für aërobe Mikroben dienen, diese Salze in Karbonate verwandelt werden. Das für Bakteriologen von Fach breitzutreten, war doch wahrlich nicht nötig. Uebrigens findet sich in der Anmerkung zu meiner Beschreibung (l. c. p. 465) trotzdem diese Tatsache erwähnt. Es heißt dort am Schlusse: „Die zunehmende alkalische Reaktion deutet auch auf Bildung von Karbonat hin."

Was die Gasentwickelung betrifft, so konnte Omelianski sich doch wohl denken, daß wenn ich ein solches so charakteristisches und augenfälliges Verhalten beobachtet hätte, dasselbe auch nicht verfehlt hätte, zu erwähnen. Der Schluß, daß in ameisensaurem Natron bei Ausschluß jeder anderen organischen Nahrung keine Gasentwickelung durch den Bac. methylicus zu beobachten ist, hätte Omelianski sofort aus meiner Mitteilung ziehen können.

Was den weiteren Vorwurf Omelianskis betrifft, daß meine Mitteilung nur kurz war, so ist derselbe ebenfalls nicht ernst zu nehmen, denn mir war es damals um nichts anderes zu tun, als zu zeigen, daß sogar die allerniedersten organischen Verbindungen von einem Mikroben zum Eiweißaufbau benützt werden können; hierzu reichte ja die Mitteilung vollkommen aus.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 181.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XII. 1892. p. 463.

Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen.

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur, unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen.] [1])

Von Dr. **Berthold Heinze** in Halle a. S.

(Fortsetzung.)

Wenn also auch A. Koch und Hosaeus aus ihren soeben erörterten Versuchen auf das Unvermögen der Hefezellen zur Ausscheidung eines hydrolysierenden Enzymes schließen, durch welches das Glykogen der Nährlösung in vergärbaren Zucker hätte übergeführt werden können, so wird man dieser Folgerung auf keinen Fall allgemeine Geltung zugestehen können, und zwar schon aus dem Grunde, weil ja M. Cremer [2]) Hydrolyse des Glykogens eintreten sah, als er Hefe in Chloroformwasser hielt. Dabei konnte er auch die Entstehung von Dextrose feststellen. Die gegenteilige Behauptung von E. Salkowski [3]), daß er das Auftreten von linksdrehendem Zucker beobachtet habe, ist, wie dieser Forscher später [4]) selbst eingeräumt hat, nicht haltbar gewesen. Da aber die im Zellinnern sich abspielende Verarbeitung des dort angesammelten Glykogens aller Wahrscheinlichkeit nach mit einer derartigen Hydrolyse beginnen wird, so durfte man wohl mit einiger Berechtigung schon lange das Vorkommen eines solchen Enzymes innerhalb der Zelle voraussagen, welches also durch das Plasma erzeugt wird. Neuerdings wurde dies schon fast zur Gewißheit durch die von Eduard Buchner und Rudolf Rapp [5]) gemachte Feststellung, daß das Glykogen durch Hefenpreßsaft vergoren werden kann. Ein derartiges Enzym darf man wohl auch in anderen Pilzen, welche Glykogen speichern und wiederverarbeiten, mit einiger Berechtigung als vorhanden annehmen.

In der That konnte neuerdings Verf. für verschiedene Organismen — auch Hefen — den experimentellen Nachweis erbringen, daß in geeigneten zuckerfreien, glykogenhaltigen Kulturen mehr oder weniger alles als Kohlenhydratnahrung gegebene Glykogen neben etwaigen anderen noch nicht näher bestimmten Spaltungsprodukten, in gärfähigen Zucker und Säuren um-

---

1) Anmerkung: Diese Beobachtungen und Untersuchungen sind vom Verf. z. T. schon während seiner Tätigkeit an der landw. Versuchsstation in Colmar i. E. gemacht worden, z. T. jedoch erst während seiner Tätigkeit an der hiesigen landw. Versuchsstation.

2) Cremer, M., Ueber Leber- und Hefezelle. (Münch. med. Wochenschr. 1894. No. 26.)

3) Salkowski, E., Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XIII. 1899. p. 506.)

4) Salkowski, E., Bemerkungen über den bei der Autodigestion der Hefe entstehenden Zucker. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXII. 1895. p. 468.)

5) Buchner, Eduard und Rapp, Rudolf, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. II. (Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XXXI. 1898. p. 209.)

gewandelt wird. (Näheres siehe im folgenden Abschnitt.) Nebenbei sei alsdann schon an dieser Stelle bemerkt, daß die Fähigkeit zur Hydrolysierung des Glykogens, wie dies zuerst wohl von A. Koch und Hosaeus[1]) beobachtet worden ist, auch verschiedenen Bakterienarten zukommt. Damit dürften zugleich die durch E. Salkowski[2]) und zuvor schon durch Schützenberger und Destrem[3]) mitgeteilten Befunde, wie auch jene einschlägigen Versuchsergebnisse ihre Erklärung finden, welche N. v. Chudiakow[4]) gegen die Behauptung des Auftretens von Selbstgärung bei der Hefe angeführt hat.

In Bezug auf das Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle mögen schließlich noch die Ausführungen Lafars (cf. Technische Mykologie, II. Eumycetengärungen. 1903. p. 512) erwähnt werden, nach denen der Augenblick des Beginnes der Verarbeitung des aufgespeicherten Glykogens nicht immer mit dem Eintritte des Mangels an benötigten Nährstoffen außerhalb der Zelle zusammenfällt, sondern auch noch durch andere Umstände, insbesondere durch das Alter der Zellen mitbestimmt zu werden scheint, so daß also auch nach ihm der Glykogengehalt schon sinken kann, obgleich noch Zucker in der Nährlösung vorhanden ist; über die weiteren eventuell mitwirkenden Umstände weiß man bis jetzt allerdings fast nichts. Bezüglich der erwähnten Glykogenabnahme hat schon M. Jodlbauer[5]), wie Lafar weiterhin schreibt, gelegentlich dahingehende Beobachtungen gemacht, die im übrigen durch Gontscharuks Befunde bestätigt wurden, über welche in einer etwas umfangreicheren, schon im Kapitel II erwähnten Arbeit „über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens der Hefezelle" R. Meissner[6]) berichtet. Bei der Zusammenfassung der erhaltenen speziellen Untersuchungsergebnisse schreibt nun allerdings Meissner besonders über das Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle unter anderem folgendes: (p. 550) .... „Nachdem die Hauptgärung des Weines vorüber ist, läßt sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogengehalts in den Hefezellen konstatieren und zwar schon zu einer Zeit, in welcher noch geringe Mengen Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind". Ausführlicher wird hierüber von Meissner an anderer Stelle (cf. p. 547) noch folgendes geschrieben: „Nachdem aber die Hauptgärung vorüber ist, und der Wein still zu werden beginnt, läßt

---

1) Koch, A. und Hosaeus, Ueber einen neuen Froschlaich der Zuckerfabriken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894. p. 225.)

2) Salkowski, E., Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XIII. 1889. p. 506.)

3) Schützenberger und Destrem, Recherches de la levure de bière. (Comptes rendus. T. LXXXVIII. 1879. p. 287.)

4) v. Chudiakow, N., Untersuchungen über alkoholische Gärung. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. YXIII. 1894. p. 391.)

5) Jodlbauer, M., Ueber die Anwendbarkeit der alkoholischen Gärung zur Zuckerbestimmung. (Zeitschr. f. Rübenzucker-Industrie. 1888. Ref. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. IV. 1888. p. 168.)

6) Meissner, R., Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 546.)

sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogengehaltes in den Hefezellen nachweisen. Wie bereits im Jahre 1892 Wortmann vermutete und jüngst durch die Versuche Gontscharuks nachgewiesen wurde, wie sich ferner auch aus anderen Untersuchungen ergab, tritt aber die Abnahme des Glykogens in den Hefezellen mikrochemisch nachweisbar bereits zu einer Zeit ein, zu welcher noch geringe Mengen Zucker in den gärenden Flüssigkeiten vorhanden sind, woraus hervorgeht, daß die beiden Prozesse, Vergärung des Zuckers in der gärenden Flüssigkeit und das Verschwinden eines Teiles des Glykogens in der Hefezelle, nebeneinander verlaufen. Nach Gontscharuk beginnt nachweisbar die Abnahme des Glykogens, wenn der Wein noch 0,3 Proz. unvergorenen Zucker enthält, nach anderen Versuchen jedoch schon viel zeitiger, wenn noch etwa 0,5—1 Proz. unvergorener Zucker im Weine vorhanden sind. Auch die hier gegebenen Zahlen werden für jeden Most andere sein. Bei sehr zuckerreichen Mosten z. B. wird das Glykogen bereits zu schwinden beginnen, wenn, wie Wortmann[1]) sagt, „die Hefe durch die Alkoholwirkung so geschwächt ist, daß keine Verarbeitung des Zuckers mehr stattfinden kann“. In diesem Fall wird sich die Abnahme des Glykogens bei relativ hohem Zuckergehalt des Weines nachweisen lassen“.

Wenn man nun die vorstehenden, an und für sich vielleicht ganz plausiblen Ausführungen von Meissner eingehender zu beurteilen sucht, so wird man nach der Ansicht des Verf. allerdings gerade das Wichtigste zu ihrer einwandfreien Begründung vermissen, nämlich den exakten Nachweis über die tatsächlich vorhandenen Zuckermengen, sobald sich mikrochemisch ein Rückgang im Glykogengehalte der Hefezellen beobachten läßt. Da Meissner bei seinen diesbezüglichen Mitteilungen (s. oben) nichts Näheres über den Nachweis und die Bestimmung der 0,3, 0,5—1,0 Proz. als unvergorenen Zucker angesprochenen Kohlenhydratmengen äußert, so geht man wohl in der Annahme nicht fehl, daß diese Zahlen lediglich mit Hilfe der allgemein üblichen Methode mit Fehlingscher Lösung, wie sie in dem bekannten Werke von J. König[2]) bezw. in ähnlichen Werken über die Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln angegeben ist, maßanalytisch oder gewichtsanalytisch gefunden worden sind, ohne daß dabei weitere spezielle Gärversuche angestellt worden sind, welche über die Frage hätten Auskunft geben müssen, ob man in diesen Fehlingscher Lösung gegenüber reduzierend wirkenden Substanzen tatsächlich auch noch lauter gärfähige Kohlenhydrate (also Zucker) vor sich hat oder ob vielmehr nur ein Teil dieser Stoffe gärfähig ist, bezw. ob die ganzen, even-

1) Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1892. p. 557, bezw. Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1900. p. 519.)

2) König, J., Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. Berlin (Paul Parey) 1893.

tuell als sogenannter „Restzucker“ zu bezeichnenden Kohlenhydratmengen für Hefen gar nicht mehr gärfähige Körper vorstellen.

Nachdem nämlich seinerzeit von Aderhold und dem Verf.[1]) zunächst bei der Zuckerbestimmung von Gurkenfrüchten (Zuckergehalt in frischen und sterilisierten Gurkensäften und ferner in vollständig getrockneten Gurken) ein harzartiger Körper antroffen wurde, welcher zwar Fehlingsche Lösung in starkem Maße reduzierte, für Hefe aber sich als nicht gärfähig erwies, und nachdem im übrigen durch dieses Verhalten die Zuckerbestimmung zuweilen recht beträchtlich beeinflußt wurde, stellte Verf. weitere Untersuchungen über das etwaige Vorkommen dieses Körpers an und fand denselben auch in mehr oder weniger großen Mengen in allerhand Fruchtsäften (Bohnen, Erdbeeren, Heidelbeeren, Kirschen, Stachelbeeren, Weintrauben, reifen und unreifen Aepfeln u. s. w. vor: er dürfte somit in der Tat oftmals zu mehr oder weniger großen Täuschungen über den wahren Zuckergehalt von Fruchtsäften Veranlassung geben. Auch dürfte man es nach späteren Beobachtungen des Verf. (welche freilich gegenwärtig nur als Orientierungsversuche einigen Wert beanspruchen können und noch nicht eingehender verfolgt werden konnten), bei so gut wie vollständig vergorenen Weinen bezüglich deren sogenannter Zuckerreste (0,2—0,3 Proz.) mit demselben Körper und überhaupt nicht mehr mit wirklichem gärfähigen Zucker zu tun haben; wenn alsdann tatsächlich zuweilen noch ziemlich beträchtliche Mengen Zucker gefunden bezw. angegeben werden, so wird man wohl immer einen Teil desselben auf Rechnung dieses Körpers setzen und infolgedessen in Abzug bringen müssen. Im übrigen dürfte dieser Körper nach weiteren Untersuchungen des Verf. zur Klasse der Pentosen gehören. Auf alle Fälle werden also die oben von Meissner angeführten Zahlen über den noch vorhandenen Zuckergehalt von Gärflüssigkeiten bezw. seine Mitteilungen über den Zeitpunkt, nach welchem sich eine auffallende Abnahme des Glykogengehaltes in der Hefezelle mikrochemisch feststellen läßt, einer Nachprüfung bedürfen.

B. Einige neue Beobachtungen über die Verarbeitung von Glykogen durch Organismen.

Bei seinen weiteren Untersuchungen über Oxalsäurebildung und Essigsäurebildung durch Aspergillus niger[2]), welche nunmehr auch bereits soweit abgeschlossen sind,

---

1) Vergl. hierzu die folgenden Mitteilungen: Aderhold u. Heinze, Ueber einen Fehlingsche Lösung reduzierenden Körper in Fruchtsäften. (Chemikerztg. Bd. XXII. 1898. p. 622.) — Ibid. (Jahresber. u. Arbeiten d. bot. Abteil. d. Versuchsstat. d. königl. preuß. pomol. Instituts zu Proskau. Originalref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 519.) — Aderhold, Rud., Ueber das Einsauern von Früchren und Gemüsen. I. Teil: Gurken. (Landw. Jahrb. Bd. XXVIII. 1899. p. 88.) — Heinze, B., Chemische Untersuchungen von verschiedenen Gurkensorten in verschiedenem Entwickelungszustande sowie über saure Gurken. (Zeitschr. f. Untersuchung v. Nahrungs- u. Genußmitteln sowie der Gebrauchsgegenstände. Jg. IV. 1903. Heft 12. p. 535.)

2) Anmerkung. Vergl. hierzu die vorläufigen Mitteilungen vom Verf.: Heinze, B., Einiges über Säurebildung durch Pilze, insbesondere über Oxalsäure-

daß sie in einiger Zeit werden bekannt gegeben werden können, hat Verf. in einem Gegensatze zu den Resultaten von Emmerling (s. auch weiter unten) die Bildung von Oxalsäure durch

und Essigsäurebildung durch Aspergillus niger. (Annales Mycologici. Bd. I. 1903. p. 350 ff.) — In neuerer Zeit sind nämlich von Krüger und dem Verf. die mannigfachsten Versuche angestellt worden, welche unter anderen vor allem auch bezweckten, die etwaige Assimilation des freien, ungebundenen Stickstoffes der Luft durch Schimmelpilze einer eingehenderen Prüfung zu unterziehen. Auf die N-Assimilationsfrage selbst soll hier nicht weiter eingegangen und nur erwähnt werden, daß nämlich bei der einen Versuchsreihe, welche mit besonderer Stickstoffnahrung (Stammlösung: 1000 ccm H_2O, 2,0 g KH_2PH_4, 0,4 g $MgSO_4$, 0,2 g $CaCl_2$, 10 g Traubenzucker und 20 Tropfen einer verdünnten $FeCl_3$-Lösung; 10 mg N in Form von $(NH_4)_2SO_4$ pro 200, 400 und 600 ccm Kulturflüssigkeit) angesetzt worden war, Verf. die Beobachtung machen konnte, daß in den betreffenden Kulturen die sämtlichen, in anderer Hinsicht näher zu prüfenden Schimmelpilze — nämlich Phoma betae, Penicillium glaucum, Mucor stolonifer und Aspergillus niger — eine mehr oder weniger starke Säurebildung hervorgerufen hatten. Auffallend stark hatten vor allem die Mucor- und Aspergilluskulturen gesäuert. In letzteren Kulturen konnte nun neben anscheinend auch etwas größeren Mengen von Essigsäure, in der Hauptsache Oxalsäurebildung mit aller Sicherheit nachgewiesen werden, und zwar freie Säure, deren Menge obendrein vom N-Gehalte sich abhängig zeigte — bei niedrigstem N-Gehalte (10 mg N pro 600 ccm) größte Menge. — In den übrigen Pilzkulturen wurden vom Verf. sicher keine nachweisbaren Mengen von Oxalsäure und nur Spuren von Essigsäure aufgefunden. Nach neueren Beobachtungen werden übrigens unter geeigneten Bedingungen auch recht beträchtliche Mengen Essigsäure durch Aspergillus niger gebildet, so daß dieser Pilz möglicherweise ganz gut und bequem technische Verwendung wird finden können, um mit seiner Hilfe aus Zuckern bezw. aus Zucker liefernden Rohmaterialien Essigsäure zu gewinnen. Näheres wird später berichtet werden.

Weiterhin mag auch an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß bei der Prüfung der verschiedenartigsten Stickstoffformen in Bezug auf ihren Wirkungswert bei der soeben kurz besprochenen Oxalsäurebildung Verf. zumal in jüngeren Aspergilluskulturen (mit 1 Proz. Dextrose) mit großer Wahrscheinlichkeit Nitrifikationserscheinungen beobachten konnte, soweit man natürlich hiervon sprechen kann, wenn man berücksichtigt, daß die bekannten Reaktionen mit Jodkaliumstärkekleister, Diphenylaminschwefelsäure und Phenylendiamin, Brucin nicht nur mit salpetriger bezw. Salpetersäure erhalten werden, sondern auch mit vielen anderen Körpern, zumal mit den verschiedensten Oxydationskörpern, wie Wasserstoffsuperoxyd, Jodaten, Eisenoxydsalzen, Chloraten und Perchloraten (letztere als spezielle Verunreinigungen des Handelssalpeters). Obendrein haben neuere Beobachtungen ergeben, daß auch unter anderen Harnstoff und Salze des Hydroxylamins mit Diphenylaminschwefelsäure z. T. selbst in weitgehender Verdünnung nahezu dieselbe intensive Reaktion wie Salpetersäure geben. Auf alle Fälle ist natürlich bei der Beurteilung der Frage, ob in irgendwelchen Kulturen salpetrige bezw. Salpetersäure gebildet worden ist, einige Vorsicht geboten. Zum einwandfreien Nachweise der Salpeter- bezw. Salpetersäurebildung wird es daher unbedingt notwendig sein, größere Mengen dieses fraglichen, nach weiteren Versuchen aber zweifellos N-haltigen Körpers zu gewinnen und besonders zu analysieren. Im übrigen ist indessen kaum mehr daran zu zweifeln, daß es außer den bekannten Winogradskyschen nitrifizierenden Organismen tatsächlich auch noch andere Organismen gibt, denen die Fähigkeit zukommt, Ammoniak und salpetrige Säure bezw. deren Salze in Salpetersäure bezw. Salpeter überzuführen: in verschiedenen Ammoniaksalzkulturen wurde nämlich mit Hilfe der bekannten Reaktionen unter den obengenannten Einschränkungen Salpetersäure bezw. Salpeter in eisenfreien Medien nachgewiesen; vor allem aber konnte auch in speziellen Nitritkulturen das vollständige allmähliche Verschwinden des Nitrits, aller Wahrscheinlichkeit nach Bildung von Salpetersäure bezw. von Salpeter und schließlich auch Wiederverarbeiten desselben durch den genannten Schimmelpilz festgestellt werden. Manche Beobachtungen bei Reinkulturen von Azotobacterorganismen machen es übrigens ebenfalls sehr wahrscheinlich, daß man bei diesen Mikroorganismen in gewissen Ent-

den genannten Schimmelpilz und zwar die Bildung von freier Säure unter den gerade innegehaltenen Bedingungen (wie beispielsweise geringer Stickstoffgehalt der Kulturflüssigkeiten, genügender Luft- bezw. Sauerstoffzutritt, Möglichkeit für den Pilz, zu fruktifizieren, Berücksichtigung von Kulturzeit und Temperatur) aus den verschiedensten Kohlenhydraten und auch aus Alkoholen wie auch weiterhin im Einklange mit den Resultaten von Emmerling aus den verschiedensten Amiden, Aminosäuren und Eiweißkörpern festgestellt. So wurde beispielsweise außer in den mannigfachsten Dextrosekulturen Oxalsäurebildung in Kulturen mit Lävulose, Galaktose, ferner mit Saccharose, Maltose, Dextrin, Inulin, (Aethyl-Alkohol?), Glycerin, Mannit unter den gewählten Bedingungen, aber noch nicht in solchen mit Pektinstoffen, Laktose und Glykogen nachgewiesen. Dieser Befund steht also in gewisser Beziehung fast durchweg in einem vollständigen Gegensatze zu den Beobachtungen und Mitteilungen von O. Emmerling[1]) über die Oxalsäurebildung durch Schimmelpilze, welcher bei all seinen Versuchen auch aus den erstgenannten Kohlenhydraten sowie aus Alkoholen keinerlei Oxalsäurebildung feststellen konnte, wohl aber unter den gerade innegehaltenen Bedingungen aus Amiden, Aminosäuren und Eiweißkörpern der verschiedensten Art. Uns interessieren nun hier vor allem die Glykogenkulturen mit Aspergillus niger.

Im Anschluß an die eben erwähnten weiteren Oxalsäuregärungsversuche mit Traubenzuckerkulturen bezw. in direktem Zusammenhange mit denselben wurden nämlich einige Glykogenkulturen mit Aspergillus niger angestellt, bei denen man zunächst folgende Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit gewählt hatte:

Nährlösung No. I

1000 ccm Wasser (Aq. dest.)
2,0 g KH_2PO_4
0,4 g $MgSO_4$
0,2 g $CaCl_2$
10,0 g Glykogen
16,66 mg N in Form von $(NH_4)SO_4$ (d. i. ca. 100 mg Salz)
20 Tropfen einer verd. $FeCl_3$-Lösung.

Die eine mit Aspergillus niger geimpfte Kultur wurde bei gewöhnlicher Zimmertemperatur — 17—18° C —, die andere mit demselben Pilze geimpfte Kultur wurde bei etwas höherer Temperatur (22—23° C) gehalten. Bei 22—23° C war die Entwickelung des Pilzes etwas schneller; sonst waren jedoch kaum nennenswerte Unterschiede zu beobachten; schon nach wenigen Tagen

wickelungsstadien und unter geeigneten Kulturbedingungen neben N-Assimilationsvorgängen auch mit etwaigen Nitrifikationserscheinungen zu rechnen haben wird; auch sind bereits Untersuchungen mit anderen Organismen, vor allem Schimmelpilzen, im Gange, welche indessen augenblicklich noch nicht abgeschlossen sind. In einiger Zeit wird darüber ausführlicher berichtet werden.

1) Emmerling, O., Ueber Oxalsäurebildung durch Schimmelpilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 273.)

fingen die anfangs stark opalescierenden Kulturflüssigkeiten an, sich zu klären, was auf eine bereits vor sich gehende Zersetzung des Glykogens schließen ließ. Nach 6 bezw. 10 Tagen war augenscheinlich keinerlei Trübung mehr zu bemerken. Es wurde deshalb schon nach 14 Tagen die eine Kultur (22—23° C) zu Voruntersuchungen abgebrochen. Im übrigen war bis dahin in beiden Kulturen eine kaum nennenswerte Fruktifikation eingetreten; hingegen hatte sich in beiden schon eine reichliche, stark verfilzte Mycelmasse entwickelt. Mikroskopische Präparate, sowie Plattenkulturen mit schwach saurem bezw. neutralem Würzeagar sowie mit schwach alkalischer Fleischextrakt-peptonzuckergelatine ergaben die alleinige Anwesenheit von Aspergillus niger. Oxalsäure war unter diesen Kulturbedingungen nicht gebildet worden, wohl aber andere Säuren und Zucker etc. (Näheres siehe im folgenden Abschnitte.)

Da bei dieser Voruntersuchung die Bildung von Zucker aus Glykogen (Prüfung mit Fehlingscher Lösung und durch nachträglichen Gärversuch mit Hefe) zweifellos sicher festgestellt werden konnte, so lag natürlich die Vermutung nahe, daß möglicherweise bei etwas höherem N-Gehalte auch eine Oxalsäurebildung sich würde beobachten lassen. Es wurden daher weiterhin Kulturflüssigkeiten von folgender Zusammensetzung verwandt:

I. Versuch Nährlösung No. IIa	II. Versuch Nährlösung No. IIb
1000 ccm Wasser (Aq. dest.)	1000 ccm Wasser (Aq. dest.)
2,0 g KH_2PO_4	2,0 g KH_2PO_4
0,4 $MgSO_4$	0,4 g $MgSO_4$
0,2 $CaCl_2$	0,2 g $CaCl_2$
2,5 g Glykogen	2,5 g Glykogen
300,0 mg $(NH_4)_2SO_4$	1300 mg $(NH_4)_2SO_4$
20 Tropfen verd. $FeCl_3$-Lösung	20 Tropfen verd. $FeCl_3$-Lösung

und mit Aspergillus niger geimpft. Leider ist es zunächst verabsäumt worden, insbesondere auch den Glykogengehalt möglichst weitgehend zu variieren, um sogleich den erhofften befriedigenden Einblick in die Frage der etwaigen Oxalsäurebildung aus Glykogen zu gewinnen.

Wie die späteren Untersuchungen ergaben, war auch bei diesen Versuchen, die übrigens bei Zimmertemperatur standen, keine Oxsäurebildung, wohl aber die Bildung von geringen Mengen anderer Säuren, sowie von Zucker etc., eingetreten (s. später). Weiterhin sind vom Verf. Versuche mit der folgenden Kulturflüssigkeit:

Nährlösung No. III

1000 ccm Wasser (Aq. dest.)
2,0 g K_2HPO_4
4,0 g $MgSO_4$
0,2 g $CaCl_2$
2,5 g Glykogen
100 mg $(NH_4)_2SO_4$

angestellt worden, und zwar wurde diese mit verschiedenartigen Organismen geimpft. Es waren dies:

Mucor stolonifer
Penicillium glaucum
Phoma betae
Dematiumschimmel* [1])
Erdschimmel* [1]) (Schimmel mit starkem Erdgeruch, in ähnlicher Weise wie bei der bekannten Cladothrix odorifera an den Geruch frisch gepflügten Landes erinnernd)
weißer Krustenschimmel* [1])
gelbgrünlicher Pilz* [1])
Dematiumhefe* [1])
(Dematiumschimmel bis Dematiumhefe: vorläufige Bezeichnung)
Hefe Türkheim (Weinhefe)
Bacillus pyocyaneus
B. agile (Salpetergärer) aus der Institutssammlung
Milchsäurebakterien (Rohkultur)
Azotobacterorganismen (Reinkulturen)
Prototheca* [1]) Beyerinck, Krüger
Chlorella protothecoïdes* [1]) Beijerinck.

Die allgemeine Entwickelung der vom Verf. geprüften Organismen sowie die etwaige Verarbeitung von Glykogen durch dieselben ist aus den beiden folgenden tabellarisch geordneten Zusammenstellungen ohne weiteres ersichtlich.

(Siehe Tabelle p. 185 u. 186.)

Zu den vorstehenden Notizen mag übrigens besonders hervorgehoben werden, daß vor allem die Mucor- und Erdschimmel-Kulturen bereits nach wenigen Tagen fast vollständig klar geworden waren, während es bei den Penicillium-Phoma-Kulturen etc. auffallend länger dauerte, bis eine nennenswerte Klärung eintrat, soweit natürlich überhaupt eine deutliche und weitgehende Klärung beobachtet werden konnte.

Die schlechte Entwickelung von vielen auf ihre Glykogenverarbeitung hin geprüften Organismen erklärt sich vielleicht aus der manchen von ihnen nicht sehr zusagenden Form der Stickstoff- und Phosphorsäurenahrung. Möglicherweise wird man also mit anderen N-Formen und Phosphorsäure-Formen völlig andere Resultate erzielen.

C. Die etwaigen Spaltungsprodukte bei der Glykogenverarbeitung durch die geprüften Organismen.

Eine etwas nähere Prüfung der Aspergilluskulturen ergab zunächst folgendes Resultat:

(Siehe Tabelle p. 187.)

1) Die mit * bezeichneten Organismen wurden vom Verf. bei bodenbakteriologischen Untersuchungen angetroffen und isoliert; sie sind möglicherweise zum Teil nur Luftinfektionen der Platten (gelbgrünlicher Pilz, weißer Krustenschimmel), zum Teil sind sie Bewohner von Ackerböden (s. oben).

A. Kulturen mit Aspergillus niger. B. Mit anderen Organismen.

	Kultur	Kulturzeit und Temperatur (17—18° C)	Entwickelung (Fruktifikation etc.)	Vorhandensein bezw. etwaiger Verbrauch von Glykogen: a) Aussehen der Kultur = Flüssigkeit (filtriert)	b) mit Alkohol. Trübung bezw. Fällung?	c) mit Jodjodkaliumlösung. Braunrotfärbung
A	Nährlösung No. I mit 10 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	15. Jan. bis 24. Febr. ca. 40 Tage	Gute Entwickelung; reichliche, stark verfilzte Mycelbildung, erst sehr spät eine kaum sichtbare Fruktifikation. Nach 10 Tagen augenscheinlich vollständige Klärung	Vollständig klar, keinerlei Opaleszenz zu beobachten	0	0 (alles Glykogen verarbeitet)
A	Nährlösung No. II, a mit 30 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	24. Jan. bis 24. Febr. ca. 31 Tage	Wie vorher gute Entwickelung und Mycelbildung, weniger stark verfilzt; ebenfalls baldige Klärung d. Kulturflüssigkeit. Fruktifiziert schon anfangs ziemlich reichlich (grauschwarz)	Ebenfalls vollständig klare Kulturflüssigkeit	0	0
A	Nährlösung No. II, b mit 130 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	24. Jan. bis 24. Febr. ca. 31 Tage	Ebenfalls gutes Wachstum u. Mycelbildung; diese am wenigsten stark verfilzt. Beim Abbrechen des Versuchs Kulturflüssigkeit noch ganz schwach getrübt. Sehr reichliche Fruktifikation (braunschwarz)	Kulturflüssigkeit noch ganz schwach getrübt	+ ?	+ ?
B	Mucor-K. Lg. No. III	28. Jan. bis 24. Febr. ca. 27 Tage	Gute Entwickelung u. Mycelbildung; geringe Fruktifikation	Kulturflüssigkeit vollständig klar	0	0
B	Penicillium-K. Lg. III	ca. 27 Tage	Gute Entwickelung u. Mycelbildung; etwas reichlichere Fruktifikation	ganz schwach getrübt	+ ?	0
B	Phoma-K. Lg. III	„ 27 „	Gute Entwickelung, ziemlich stark verfilzte Mycelbildung, sowie gemmenartige Bildungen	ganz schwach getrübt; noch geringe Mengen Glykogen zweifellos vorhanden	+	+
B	Dematium-Schimmel-K. Lg. III	„ 27 „	Wachstum gut, reichliche Mycelbildung; keine Fruktifikation	ganz schwach getrübt	+ ?	+ ?
B	Erd-schimmel-K. Lg. III	„ 27 „	Gutes Wachstum, sehr geringe Fruktifikation, starker Erdgeruch	vollständig klar schon nach wenigen Tagen	+ ?	0

Bemerkungen: Ungeimpfte Glykogenkulturflüssigkeiten außerordentlich stark milchig getrübt (opalescierend). Positiver Befund: +; negativer Befund: 0. Reaktion nicht sicher zu beurteilen: ?

	Kultur	Kulturzeit und Temperatur (17—18° C)	Entwickelung (Fruktifikation etc.)	Vorhandensein bezw. etwaiger Verbrauch von Glykogen a) Aussehen der Kultur = Flüssigkeit (filtriert)	b) mit Alkohol. Trübung bezw. Fällung?	c) mit Jodjodkalilösung. Braunrotfärbung
B	Weiße Krustenschimmel-K. Lg. III	ca. 27 Tage	Sehr mäßige Entwickelung des Pilzes	wenig opalisierend	+	+ (Glykogen noch nachweisbar)
	gelbgrünliche Pilz-K. Lg. III	„ 27 „	Ziemlich schlechte Entwickelung des Pilzes	ziemlich stark opalisierend	++	++
	Dematiumhefe-K. Lg. III	„ 27 „	Mäßige Entwickelung, geringer Bodensatz	deutlich opalisierend	++	++
	Weinhefe-K. Lg. III	„ 27 „	Mäßige Entwickelung, unbedeutender Bodensatz	wenig opalisierend	+	+ ?
	B. pyocyaneus-K. Lg. III	„ 27 „	Unbedeutende Entwickelung	noch stark opalisierend	+++	+++
	B. agile-K. Lg. III	„ 27 „	Mäßig gute Entwickelung; unbedeutender Bodensatz	deutlich opalisierend	++	+
	Milchsäurebakterien-K. Lg. III	„ 27 „	Ziemlich gute Entwickelung; Schimmelentwickelung (Oidium) nicht beobachtet, bei Verwendung von Rohkultur (s. oben)	kaum merklich getrübt	+ ?	0
	Azotobakter-K. Lg. III	27 „ „	Nur mäßig gute Entwickelung; keine Hautbildung; etwas flockige, schleimige Massen; schwache Ringbildung am Glasrande	schwach getrübt, wenig opalisierend	+ ?	+ ?
	Prototheca-K. Lg. III	27 „ „	Mäßige Entwickelung, unbedeutender Bodensatz	wenig opalisierend	+	+
	Chlorella-K. Lg. III	27 „ „	Ebenfalls nur mäßig gute Entwickelung, unbedeutender Bodensatz gebildet	deutlich opalisierend ziemlich stark getrübt	++	++

Bemerkungen: Ungeimpfte Glykogenkultur-Flüssigkeiten außerordentlich stark milchig getrübt (opalisierend). Positiver Befund: +; negativer Befund: 0; Reaktion nicht sicher zu beurteilen: ?.

Art der Kultur	Säurebildung und Säuregehalt a) Art der Säure	b) Gehalt pro 100 ccm Kulturflüssigkeit angegeben in ccm $Ba(OH)_2$ (Titer: 1ccm = 0,0023 g N)	Zucker Prüfung mit Fehlingscher Lösung	Alkohol? Jodoformreaktion	Ammoniak	HNO_3?	Glykogen vergl. oben
I. Kultur mit 1,0 Proz. Glykogen und 10 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	Oxalsäure nicht gebildet. Essigsäure? Ameisensäure?	entsprechend: 42,0 ccm $Ba(OH)_2$	+++	+	0	0	0
II. Kultur mit 0,25 Proz. Glykogen und 30 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	Oxalsäure nicht gebildet. Essigsäure? Ameisensaure?	entsprechend: 6,0 ccm $Ba(OH)_2$	++	?	+ Spuren	(+)?	0
III. Kultur mit 0,25 Proz. Glykogen und 130 mg $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm	Oxalsäure nicht gebildet. Essigsäure? Ameisensäure?	entsprechend: 4,0 ccm $Ba(OH)_2$	+	?	+++	(+)?	+? Spuren

Bemerkungen: Positiver Befund: +; negativer Befund: 0; Reaktion nicht sicher zu beurteilen: ?.

Aus den vorstehenden Angaben ist ohne weiteres ersichtlich, daß in allen 3 Kulturen (bis auf ganz geringe Mengen in No. III) des Glykogen von Aspergillus niger verbraucht und neben etwaigen anderen Spaltungsprodukten Zucker (als Dextrose angesprochen) und Säuren gebildet worden sind; Oxalsäure ist unter diesen Bedingungen nicht entstanden; nach den bisherigen Prüfungen jedoch aller Wahrscheinlichkeit nach Essigsäure und Ameisensäure; entsprechend dem höheren Glykogengehalte in Kultur No. I, wahrscheinlich auch gleichzeitig mitbedingt durch den weit niedrigeren N-Gehalt, ist in No. I viel mehr Säure gebildet worden als in No. II und No. III. Bestimmte Schlüsse lassen sich jedoch aus diesen Zahlen für die Säurebildung natürlich noch nicht ziehen. Auch ist eine etwaige Alkoholbildung aus der positiven Jodoformreaktion allein noch keineswegs sichergestellt, weil ja bekanntlich auch andere Stoffe diese Reaktion geben können. In No. I und II ist das Ammoniak bis auf Spuren in No. II verarbeitet worden. Auf etwaige Nitrifikationserscheinungen (Bildung von Salpetersäure bezw. von Salpeter soll an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden (s. oben). Im übrigen war die Zuckerreaktion bei No. I auffallend stark gegenüber denen bei No. II oder gar bei No. III. Ueber den Eintritt der Zucker- und Säurebildung, welch letztere nach anderweitigen Beobachtungen bei der Oxalsäurebildung wahrscheinlich in gewissen gesetzmäßigen Beziehungen zu der Aufnahme des Ammoniaks steht, sollen gelegentlich weitere Untersuchungen in Angriff genommen werden.

Art der Kultur	Säurebildung und Säuregehalt a) Art der Säure	b) Gehalt pro 100 ccm Kulturflüssigkeit angegeben in ccm $Ba(OH)_2$ (1 ccm = 0,0023 g N)	Zucker Prüfung mit Fehlingscher Lösung	Alkohol? Jodoformreaktion	Ammoniak	HNO_3?	Glykogen vergl. oben
Mucor-K. Lg. III.	Oxalsäure nicht gebildet; andere Säuren?	8,0 ccm $Ba(OH)_2$ Reaktion stark sauer	0	++	0	0	0
Penicill.-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	6,0 ccm $Ba(OH)_2$ R. stark sauer	+	(+)?	0	+	0
Phoma-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	++	+	0	0	+
Dematium-schimmel-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	+	+?	0?	+	+?
Erdschim-mel-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. deutlich sauer	+	?	++	0	0
Weißer Krusten-schimmel-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	+	?	0	+	+
Gelbgrüne Pilz-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	+	?	+	+	++
Dematium-hefe-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	+? ganz schwache Reaktion	+	++	++	++
Weinhefe-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. deutlich sauer	++	++	+	+	+?
B. pyocy-aneus-K. Lg. III.	nicht geprüft	2,0 ccm $Ba(OH)_2$ R. schwach sauer	+	+?	+	+	+++
B. agile-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	8,0 (10,0) ccm $Ba(OH)_2$ R. stark sauer	+	++	+?	+	+
Milchsäure-bakterien-K. Lg. III.	keine Oxalsäure	— R. stark sauer	+	?	0	0	0
Azoto-bacter-K. Lg. III.		— R. sehr deutl. sauer	++	?	0	+	+?
Prototheca-K. Lg. III.	nicht geprüft	3,0 ccm $Ba(OH)_2$ R. schwach sauer	++	+	+?	+	+
Chlorella-K. Lg. III.	nicht geprüft	2,0 ccm $Ba(OH)_2$ R. schwach sauer	+	?	?	0	++

Bemerkungen: Die ungeimpften Kulturflüssigkeiten reagierten ganz schwach alkalisch (K_2HPO_4). Positiver Befund: +; negativer Befund: 0. Reaktion nicht sicher zu beurteilen: ?. Mit Diphenylaminschwefelsäure tritt in den ungeimpften Kulturflüssigkeiten keine Blaufärbung ein.

Weiterhin zeigt uns ein Blick auf die beigegebene tabellarische Zusammenstellung der Ergebnisse, welche bei der etwas näheren Untersuchung einiger Glykogenkulturen mit verschiedenen anderen Organismen gefunden wurden, daß auch bei diesen Kulturen im allgemeinen ganz ähnliche Erscheinungen beobachtet werden konnten, wie sie soeben in Kürze für die Aspergillus-Kulturen erörtert worden sind; insbesondere ist das Glykogen, welches allerdings in manchen Kulturen zuweilen recht unvollständig verarbeitet worden war, auch hier in Zucker und Säuren umgewandelt. Die Säuren sind noch nicht näher bestimmt worden, auch die Menge derselben wurde nur bei einigen ermittelt. Oxalsäurebildung war indessen in nachweisbaren Mengen nirgends eingetreten. Als auffallend muß es zunächst bezeichnet werden, daß in der Mucor-Kultur kein Zucker nachgewiesen werden konnte; diese Erscheinung mag jedoch zunächst wenigstens darin ihre Erklärung finden, daß innerhalb der angegebenen Kulturzeit schon sämtlicher Zucker weiter zu Säure und auch Alkohol verarbeitet worden ist, zumal ja Mucor stolonifer unter gewissen Bedingungen schon als ziemlich starker Alkoholbildner bekannt ist. Ueber all diese Erscheinungen müssen natürlich erst weitere viel eingehendere Untersuchungen angestellt werden, um einen einigermaßen vollständig befriedigenden Einblick in dieselben zu gewinnen. Im übrigen konnte eine reichliche Zuckerbildung unter anderem durch Azotobacterorganismen und Weinhefen festgestellt werden. Daß es sich bei den vorliegenden Untersuchungen über die Verarbeitung des Glykogens durch Organismen unter dessen Spaltungsprodukten um das Auftreten von Zucker handelt, wurde weiterhin dadurch nachgewiesen und erhärtet, daß man wenigstens mit den Weinhefe-, Azotobacterorganismen- und Aspergillus-Kulturflüssigkeiten nachträglich besondere Gärversuche mit Hefe anstellte, welche ergaben, daß unter vorwiegender Alkohol- und Kohlensäurebildung die ganze Fehlingsche Lösung reduzierende Substanzmenge in allen 3 Fällen vollständig vergoren wurde. Alsdann konnte die erfolgte Zuckerbildung bei diesen Kulturflüssigkeiten indirekt auch dadurch nachgewiesen werden, daß in allen 3 Fällen Oxalsäurebildung eintrat, sobald man zu der filtrierten Kulturflüssigkeit frische, zuckerfreie, jedoch stickstoffhaltige (10 mg Salz pro 100 ccm) Nährlösung (cf. Lg. I) zufügte, das Ganze sterilisierte und mit Aspergillus niger impfte. Für die Entstehung von Traubenzucker, wenn auch nicht für dessen ausschließliches Vorhandensein bezw. das tatsächliche Vorhandensein, da andere Stoffe dieselbe Reaktion geben können, spricht ferner das Eintreten einer Gelbfärbung, wenn man die erwähnten Kulturflüssigkeiten mit Natronlauge behandelte, das Auftreten von grauen oder auch grüngelben Niederschlägen, wenn man dieselben mit alkalischen Quecksilberlösungen erwärmt und das Auftreten eines Silberspiegels, wenn man sie in geeigneter Weise mit Silbernitrat behandelt. Sehr gute Dienste würde nach neueren Versuchen von Gaus und Tollens (cf. Annal. d. Chem. Bd. CCXLIX. p. 215) für den speziellen Nachweis des hier zweifellos gebildeten

Zuckers als Dextrose die Herstellung von Zuckersäure leisten, welche nach dem Verfahren von Sohst und Tollens (cf. ebenfalls Annal. d. Chem. Bd. CCXLIX. p. 215) mit Leichtigkeit als Silbersalz zu identifizieren ist. Soweit nämlich bis jetzt bekannt ist, wird Zuckersäure nur aus Dextrose bezw. Dextrose liefernden Kohlenhydraten herzustellen sein. Am sichersten würde natürlich die Abscheidung der Dextrose in Substanz aus größeren Mengen der erhaltenen Kulturflüssigkeiten durch Krystallisieren und die Prüfung auf Rechtsdrehung, sowie spezifische Rotation [(α) D = + 52.7 °] in 10-proz. Lösung sein. Diese Versuche haben indessen vom Verf. aus Mangel an Material nicht angestellt werden können. Dafür aber, daß zum mindesten ein Zucker der Traubenzuckerreihe, also eine Glukose vorliegt, spricht schließlich auch das Auftreten eines gelben Niederschlages, also die Entstehung eines Glukosazons, wenn man die betreffenden Kulturflüssigkeiten in essigsaurer Lösung mit Phenylhydrazin behandelte. Wegen zu geringen Materiales konnte indessen keine Umkrystallisierung vorgenommen werden, um den Schmelzpunkt genauer bestimmen zu können, der bekanntlich für die gelben Nadeln der Glukosazone aus d-Glukose, d-Fruktose, d-Mannose bei 205 ° C liegt.

Kapitel IV.

Einiges über die Bedeutung des Glykogens als Stoffwechselprodukt niedriger pflanzlicher Organismen sowie einige Schlußbemerkungen.

Das Glykogen ist bekanntlich von den verschiedensten Forschern als Speicherstoff oder Reservestoff bezeichnet worden; und das wohl mit vollem Recht. Wie auch Lafar in seinem ausgezeichneten Buche der technischen Mykologie (cf. Bd. II. p. 511) in ähnlichem Sinne schreibt, wird nämlich dieses Kohlenhydrat zu Zeiten des Ueberflusses an gewissen Nährstoffen in den Organismenzellen angesammelt, um alsdann wieder verbraucht zu werden, wenn ein relativer oder absoluter Mangel an bestimmten Nährstoffen eingetreten ist. Ob dies freilich tatsächlich immer dann erst der Fall ist, wenn die Kohlenhydratquelle oder auch irgend eine andere Quelle, wie beispielsweise also der Zucker oder die Milchsäure, aus denen das Glykogen sich bilden kann, bereits vollständig oder wenigstens nahezu versiegt ist, oder ob nicht vielmehr nach neueren Beobachtungen des Verf. auch andere Faktoren, wie z. B. Stickstoffgehalt und Stickstoffformen oder der Säuregehalt der Kulturflüssigkeiten eine wichtige Rolle bei den erwähnten Erscheinungen spielen, alle diese Fragen können zur Zeit noch nicht befriedigend beantwortet und müssen noch offen gelassen werden. Eingehendere Untersuchungen werden aber sicherlich in diese verwickelten Vorgänge mehr und mehr Klarheit bringen. Man nimmt nun gegenwärtig meistens an, daß das Glykogen entweder wieder verarbeitet wird für die Zwecke der Erhaltung der Spannkraft des Individuums in einer an erforderlichem Nährstoff baren Umgebung oder aber für den Aufbau neuer In-

dividuen und deren Ernährung bis zu jenem Augenblicke, in dem sie befähigt sind, für sich selbst zu sorgen. Der 2. Fall dürfte beispielsweise dann gegeben sein, wenn ein Sklerotium auskeimt. So hat ja bekanntlich an demjenigen von Coprinus niveus wie auch an dem von Claviceps purpurea L. Errera[1]) genau verfolgt, wie aus den Zellen dieser Hartmycele das Glykogen allmählich nach den Zellen der aus diesen Pilzkörpern hervortreibenden Hutpilzchen wandert. In ähnlicher Weise hat dieser Forscher auch Beobachtungen bei der Keimung verschiedener Pilzsporen, z. B. derjenigen der Mucorineen, machen können. (Vergl. hierzu auch die diesbez. Erörterungen in Lafars technischen Mykologie. Bd. II. p. 511.)

Dieses Wandern des Glykogens bei den Pilzen dürfte demnach nach unseren gegenwärtigen Anschauungen das entsprechende Gegenstück zu dem schon lange bekannten Wandern der Stärke bei den höheren Pflanzen sein, insbesondere während des Keimens von deren Samen. Uebrigens werden von dem genannten Forscher auch bereits Angaben gemacht, welche das Entstehen von Glykogen aus dem Oele von Organismenzellen sehr wahrscheinlich machen; weiterhin neigt Verf. selbst zu der Ansicht, daß auch umgekehrt die in Gärprodukten u. s. w. in geringen Mengen immer vorkommenden fett- und ölartigen Substanzen zum Teil wenigstens bei der weiteren Umformung des Glykogens aus diesem Kohlenhydrat sich bilden können. Besondere Beobachtungen und Untersuchungen über die etwaige Fettbildung aus Glykogen, wie auch umgekehrt von Glykogen aus Fetten oder Oelen dürften daher sicherlich nicht unerwünscht sein.

Im übrigen kann natürlich der für die Zwecke des Freimachens von Spannkraft sich einstellende Abbau des Glykogens unter gewissen Bedingungen entweder schon auf halbem Wege stehen bleiben, wobei im allgemeinen Zucker, Säuren, Alkohol entstehen dürften, oder aber er kann unter anderen Bedingungen bis zur vollständigen Verbrennung dieses Kohlehydrates zu Kohlensäure und Wasser fortschreiten. Nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen soll das letztere speziell bei Hefezellen für gewöhnlich immer dann stattfinden, wenn die Luft unmittelbaren Zutritt hat.

(Schluß folgt.)

1) Errera, L., Les réserves hydrocarbonnées des Champignons. (Comptes rendus. 1885. Bd. CI. p. 391.)

Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von Prof. Dr. **R. Burri.**

Im Herbst des abgelaufenen Jahres bin ich durch Vermittlung des zürcherischen kantonalen Käsereiinspektors zur Kenntnis eines Betriebsstörungsfalles gelangt, dessen in der Folge unternommene bakteriologische Untersuchung zu Ergebnissen führte, die in mehr als einer Richtung bemerkenswert und daher einer eingehenden Berichterstattung würdig zu sein scheinen.

A. Der praktische Befund.

In der fraglichen, im benachbarten Thurgau gelegenen Käserei, welche täglich zwei Laibe von 90—100 kg produzierte, waren folgende abnormale Erscheinungen zu beobachten. Der junge, unter der Presse befindliche Käse ließ, sobald er ein Alter von 8—12 Stunden erreicht hatte, Molken abfließen, die durch eine klebrige, fadenziehende Beschaffenheit ausgezeichnet waren. Noch jüngerer, erst einige Stunden unter der Presse befindlicher Käse gab hingegen normale, wässerig tropfbare Molken ab, wie auch die Bearbeitung des Bruchs im Kessel normal von statten ging und in keiner Weise den Gedanken an eine fehlerhafte Beschaffenheit der zu verkäsenden Milch aufkommen ließ. Im engsten Zusammenhang mit dem Auftreten zähflüssiger Molken bei mindestens 8 Stunden alten Käsen stellte sich ein etwas ungleichmäßiges Aussehen ihrer Oberfläche ein. Eingestreut in das normale Hellgelb derselben waren verschieden große, unscharf umschriebene, mehr weißliche Flecke. Diese verrieten die Stellen, wo die infolge der erhöhten Viskosität schwer abpreßbaren Molken sich angesammelt, bezw. Inseln oder Nester mit erhöhter Feuchtigkeit gebildet hatten. Durch entsprechenden Druck auf die umliegenden Teile des Käses ließ sich mit Leichtigkeit etwas Flüssigkeit gewinnen, welche genau die auffallende Beschaffenheit zeigte, wie die in die Rinne des Preßtisches ablaufenden Molken. Zwischen Zeigefinger und Daumen gefaßte Tropfen dieser Flüssigkeit lösten sich bei der Trennung der Fingerflächen in ein ganzes System feinster Fäden auf. Die gleichen Fäden waren aus feuchten Bruchkörnern desselben Käses zu erzielen. Eine solche Beschaffenheit des ganz frischen Käses konnte natürlich nicht ohne Einfluß auf die Qualität des handelsreifen Produktes sein. In der Tat hat die betreffende Käserei beinahe während eines ganzen Jahres vorwiegend Ausschußware fabriziert. Der Fehler war im wesentlichen ein Rindenfehler. Feuchte, bei regelrechter Behandlung des Käses nicht trocknende Stellen

gaben Anlaß zu Rissen und Sprüngen und das bloßgelegte Innere fiel abnormalen, zum Teil fäulnisartigen Zersetzungsprozessen anheim. Abgesehen von solchen Fehlstellen, war der Teig der gereiften Ware bezüglich Geschmack, Geruch und Konsistenz von guter bis sehr guter Beschaffenheit.

Wenn die Milch, wie schon bemerkt, beim Verkäsen keine irgendwie unangenehm auffallenden Eigenschaften zeigte, so hatte doch die sogenannte Gärprobe, ein der praktischen Milchprüfung dienendes elektives Kulturverfahren für den Nachweis des Vorhandenseins von Erregern abnormaler Gärungsprozesse sich als ein Mittel erwiesen, die Milch mehrerer Lieferanten als fehlerhaft zu erkennen, und zwar wies das Verhalten der Gärprobenmilch aufs schärfste einen Zusammenhang mit den eingangs für den jungen Käse erwähnten Erscheinungen nach. Die während 24 oder besser während 36 Stunden im Wasserbad von 37—40° C gehaltenen und nach dieser Zeit geronnenen Proben waren nämlich zum Teil dadurch ausgezeichnet, daß die neben dem mehr oder weniger feinflockigen, wenig festen Kaseingerinnsel zur Ausscheidung gelangten Molken deutlich fadenziehend waren. Besonders ausgeprägt trat diese Eigentümlichkeit hervor beim Ausgießen der Flüssigkeit aus dem Probeglas. An Stelle der wässerigen Tropfen, wie sie bei vorsichtigem Neigen des Glases bei nicht fadenziehenden Proben zu beobachten waren, gelang es in den fraglichen Fällen leicht, decimeterlange, elastische Fäden zu erhalten. Daß die schleimig-fadenziehende Beschaffenheit der in der Gärprobe abgeschiedenen Molken und das beim jungen Käse, bezw. bei der aus diesem abgepreßten Flüssigkeit zu beobachtende Phänomen eine gemeinsame Ursache hatten, darüber konnte kein Zweifel bestehen. Es lag ferner auf der Hand, daß in beiden Fällen die längere Zeit zur Einwirkung gelangte hohe Temperatur dazu dienen mußte, in der Milch, resp. in ihrem Fabrikationsprodukt schlummernde Kräfte auszulösen, die sich sonst unserer Kenntnis entzogen hätten, wie das durchaus normale Verhalten der gleichen bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrten Milchproben beweist. Bei der langsamen Abkühlung, wie sie durch die bedeutende Masse eines Rundkäses nach Emmentaler Art bedingt ist, werden Temperaturen, welche für die Entwickelung gewisser schädlicher Bakterien z. B. der Gasbildner aus der Coli-Gruppe, besonders günstig sind, nur sehr langsam durchlaufen. Man hat diesen Umstand schon längst als ein das Auftreten gewisser Käsefehler begünstigendes Moment erkannt, und es ist gewiß, daß z. B. die Entstehung der schon unter der Presse geblähten Käse aufs engste mit demselben zusammenhängt. Im vorliegenden Fall spricht das frühzeitige Auftreten des Käsefehlers, der in unverkennbarer Weise im Zusammenhang steht mit einem nur durch Anwendung der Gärprobe sichtbar zu machenden Milchfehler sehr deutlich für die entwickelungsfördernde Rolle der höheren Temperatur. In der Gärprobe beträgt dieselbe konstant 37—40°, im jungen Käse handelt es sich um eine im Sinne der Abnahme sich beständig ändernde Temperatur, die im Anfang 50—55°, in 5 Stunden altem Käse laut meinen in der Käserei

vorgenommenen Messungen noch ca. 45° und nach 16 Stunden immer noch ca. 35° beträgt. Daß unter diesen Verhältnissen solchen Bakterien, welche ihr Wachstumsoptimum bei ungefähr Bluttemperatur haben und unter der Einwirkung des sogenannten Nachwärmens nicht zu Grunde gegangen sind, Gelegenheit zu reichlicher Vermehrung gegeben ist, bedarf keiner weiteren Begründung.

B. Die auf Isolierung eines mit charakteristischen Eigenschaften ausgerüsteten Schädlings abzielenden Versuche.

Die Besprechung dieser Versuche scheint mir am besten in Anlehnung an die zeitliche Reihenfolge der Entnahme des Probematerials zu geschehen.

1. Probematerial vom 15. Oktober.

Dasselbe ist mir durch den erwähnten Käsereiinspektor persönlich übermittelt worden und bestand aus Bruchkörnern und ausgepreßten Molken von einem jungen Käse, der mit dem geschilderten Fehler behaftet war. Die Flüssigkeit erwies sich als deutlich fadenziehend. Sofort nach Empfang des Materials sind mit verschiedenen Verdünnungen Aussaaten gemacht worden, und zwar dienten als Kulturformen Molkengelatineplatten, Milchzuckeragarplatten und Milchzuckeragar in hoher Schicht[1]). Sämtliche Agarkulturen standen bei 30° C, die Gelatineplatten bei Zimmertemperatur. Das Ergebnis dieser Aussaaten bei den Agarkulturen war schon nach 2 Tagen ein recht befriedigendes. Das Versuchsprotokoll enthält darüber folgende Notizen;

Milchzuckeragarplatten vom 15./X., untersucht am 17./X. Eine der Platten, mit einigen Hundert Kolonieen besetzt, macht ungefähr den Eindruck einer Reinkultur des Bacterium Güntheri Lehm. et Neum. Zunächst werden die $^1/_4$—$^1/_2$ mm großen oberflächlichen Kolonieen auf fadenziehende Eigenschaften geprüft, 5 von 20 mit positivem Erfolg. Die mittels Platinnadel aus der Kolonie gezogenen Fäden sind allerdings kurz (einige mm) und schnell abreißend. Die Untersuchung solcher fadenziehender Kolonieen im hängenden Tropfen zeigt Stäbchen vom Typus des Bact. Güntheri, oft in kurzen und längeren Ketten gelagert. Einzelzellen von etwas gestreckterem Bau und an den Enden noch ausgeprägter zugespitzt, als ein gewöhnliches Güntheri aus saurer Milch. Die Tiefenkolonieen sind ihrer Kleinheit wegen nicht gut auf schleimige Beschaffenheit zu prüfen. Im hängenden Tropfen bestehen sie zum Teil aus Formen, die genau denjenigen der fadenziehenden Oberflächenkolonieen entsprechen, zum Teil aus ausgesprochenen Kokken, vorwiegend aber aus kürzeren und längeren Ketten von mehr gedrungener Bauart, wie man sie bei normalen Güntheri, namentlich bei Anwendung relativ hoher Züchtungstemperatur häufig findet.

Milchzuckeragar in hoher Schicht vom 15./X., untersucht am 17./X. Die drittte Verdünnung hat etwa 100 mittelgroße ca. $^1/_2$ mm Durchmesser haltende linsenförmige, glattrandige Kolonieen entwickelt. Ein Teil des Agarcylinders wird in Scheibchen zerschnitten und eine Anzahl der bloßgelegten Kolonieen auf fadenziehende Beschaffenheit wie auch bezüglich der Form der zelligen Elemente geprüft.

Kolonie 1. Deutlich fadenziehend, besteht fast nur aus Ketten von 5—20 Gliedern; Typus des kettenbildenden Bact. Güntheri.

Kolonie 2. Sehr ausgeprägt fadenziehend. Beim Zurückziehen der Nadel

1) In der von mir angegebenen Modifikation (vergl. dieses Centralblatt. Bd. VIII. S. 533).

von der Kolonie entstehen dünne Fäden von 3—5 cm Länge! Doppelstäbchen und kurze Ketten vorherrschend, doch kommen auch Verbände von mehr als 10 Gliedern vor.

Kolonie 3 liefert Fäden von mindestens 1 cm Länge; lange Ketten vorherrschend.

Kolonie 4. Schleimfäden mehrere Centimeter lang! neben kürzeren zahlreiche lange Ketten.

Die Größe der Einzelzellen entspricht ungefähr der bei den Agarplattenkolonieen gefundenen. Die Dicke beträgt meist annähernd 1 μ, erreicht aber bei einzelnen Gliedern 1,5 μ. In den längeren Ketten sind die Einzelzellen meist etwas kürzer als in Doppelstäbchen.

Molkengelatine-Platten vom 15./X., untersucht am 20./X. Die Platten machen bei oberflächlicher Betrachtung einen ziemlich einheitlichen Eindruck. Verflüssigende Kolonieen nicht vorhanden. Sämtliche näher untersuchten Kolonieentypen erwiesen sich aus Hefen bestehend: Zwischen den Hefenkolonieen finden sich noch feinste Punkte, die höchst wahrscheinlich den in den Agarkulturen so reichlich vertretenen Bakterienkolonieen entsprechen. Auf nähere Untersuchung dieser Kolonieen wird vorläufig ihrer außerordentlichen Kleinheit wegen verzichtet.

Wie aus den obigen Angaben zu entnehmen ist, haben also die ersten auf die Isolierung eines schleimbildenden Organismus gerichteten Versuche zu einem positiven Ergebnisse geführt. Wenigstens haben die bei 30° C gehaltenen Milchzuckeragarkulturen und unter diesen speziell die Kulturen in hoher Schicht Kolonieen eines Stäbchens geliefert, die in ausgeprägtester Weise fadenziehende Beschaffenheit erkennen ließen. Daß in diesem Stäbchen die Ursache der oben erwähnten Betriebsstörung gefunden war, schien zweifellos zu sein. Völlige Gewißheit über diesen Punkt ließ sich indessen nur aus der Verarbeitung weiteren, in der Käserei eigenhändig entnommenen Untersuchungsmaterials gewinnen, wie auch die Erforschung der näheren Umstände der Infektion eine Einsichtnahme der Verhältnisse an Ort und Stelle wünschenswert erscheinen ließ.

2. Probematerial vom 21. Oktober.

Ausgerüstet mit der nötigen Anzahl sterilisierter Gefäße zur Aufnahme der Proben, begab ich mich in Begleitung des eingangs erwähnten Molkereisachverständigen in die Käserei in H., wo wir mittags 1 Uhr anlangten. Zwei Käse befanden sich unter der Presse, nämlich derjenige vom vorhergehenden Abend und der am Morgen einige Stunden vor unserer Ankunft bereitete. Der erstere zeigte nach Entfernung des Preßdeckels die klebrige fadenziehende Beschaffenheit der Bruchkörner in typischer Weise, auch blieben beim Herausziehen des behufs Feststellung der Temperatur in das Innere des Käses gesteckten Thermometers an diesem feine elastische Fäden haften. Der zweite, erst 4—5 Stunden alte Käse ließ hingegen nichts Abnormales erkennen. Der Käser äußerte sich aber dahin, daß bis am Abend oder spätestens bis am folgenden Morgen dieser Käse genau dieselben unerwünschten Erscheinungen bieten würde, wie der andere. Von beiden Käsen wurden unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln Proben für die bakteriologische Untersuchung entnommen und in sterilisierte Gläser übertragen. Eine weitere Probe enthob ich im Käsespeicher von einem in der Rinde

schadhaften Käse, der im Juni fabriziert worden war. Die von der Oberfläche nach innen vordringenden Faulstellen solcher Käse waren offenbar eine Folge des abnormalen Verhaltens unter der Presse, und es schien von Interesse zu sein, zu konstatieren, ob in solchen Stellen der so frühzeitig sich bemerkbar machende Schädling auch noch nachzuweisen wäre. Eine vierte Käseprobe endlich verschaffte mir der Käsereiinspektor aus einer von ihm auf der Rückreise besuchten Käserei, die zur Zeit mit keinerlei Betriebsstörungen zu kämpfen hatte und demnach geeignet war, normales Vergleichsmaterial zu liefern. Die betreffende Probe bestand aus Molken, die beim Abtropfen von einem etwa 6 Stunden alten, unter der Presse befindlichen Käse in ein sterilisiertes Gläschen aufgefangen worden sind.

Außer auf die Käse selbst war in der Käserei in H. mein Augenmerk auf die Milch gerichtet, die ja, wie schon früher angegeben, als der eigentliche Urheber des Käsefehlers zu betrachten war. Ich habe demnach die Probenahme für die bakteriologische Untersuchung auch nach dieser Seite hin ausgedehnt. In den wenigen Stunden, die mir in H. zur Verfügung standen, fand sich allerdings keine Gelegenheit zu direkten Enthebungen bei der Milcheinlieferung, da die letztere am Morgen und Abend stattfindet. Auf Proben, der in der sogenannten Milchkammer in Satten aufgestellten Milch legte ich andererseits keinen Wert, weil dieselbe bereits in der Käserei durch das Personal oder wenigstens durch das Milchgeschirr infiziert sein konnte. Ich hatte daher schon am Tage vor meiner Ankunft eine genügende Zahl mit Watteverschluß versehener, sterilisierter Reagenzgläser in die Käserei geschickt und dafür gesorgt, daß am Morgen bei der Milcheinlieferung von jeder einzelnen Tanse (es waren deren 27 von 20 Milchlieferanten stammend) ohne Zuhilfenahme eines Schöpfgefäßes oder dergl. ein Quantum direkt in das Reagensglas gegossen wurde, das unmittelbar nachher wieder mit dem Wattestopfen zu verschließen war. Diese Probenahme ist unter persönlicher Aufsicht und Beteiligung des Präsidenten der Käsereigesellschaft und des Käsereibesitzers erfolgt, so daß ich mit dem nötigen Zutrauen an die Verarbeitung des Materials und die Verwertung der Resultate gehen konnte. Vor allem gedachte ich mit Hilfe dieser 27 Einzelproben ausfindig zu machen, aus welchen Ställen, bezw. von welchen Lieferanten Milch in die Käserei gelangte, die mit den schädlichen Bakterien behaftet war. Inwiefern diese Frage durch die vorgenommenen Untersuchungen entschieden werden konnte, ist weiter unten zu ersehen.

Eingangs ist schon erwähnt worden, daß mit Hilfe der in der Käserei ausgeführten Gärprobe bei der Milch einiger Lieferanten eine abnormale Beschaffenheit festgestellt werden konnte, die sich in ihrer Eigentümlichkeit ganz mit dem abnormalen Verhalten des jungen Käses deckte. Zu wiederholten Malen vorgenommene Prüfungen der Milch sämtlicher Lieferanten hatten nun auffallenderweise meist sich widersprechende Ergebnisse gezeitigt. Wenn das eine Mal eine gewisse Anzahl von Ställen auf Grund des Gär-

probenausfalls beschuldigt werden mußte, fadenziehende Milch geliefert zu haben, so bestätigte sich dieses Resultat bei einer nächsten Untersuchung nur noch bei einem Teil jener Ställe, der andere Teil schien jetzt eine nicht zu beanstandende Milch zu liefern. Dafür waren Ställe in die schlimme Reihe gerückt, die früher zu den besseren gezählt hatten. Auf Veranlassung des Käsereiinspektors war wiederum eine Prüfung der Milch sämtlicher Lieferanten durch die Gärprobe zeitlich so angeordnet worden, daß wir den Ausfall persönlich kontrollieren konnten. Am Abend des 19. Okt. sind die Proben bei der Milcheinlieferung entnommen und sofort in das 37—40° warme Wasserbad gesetzt worden. Bei dieser Temperatur hatten sie 36 Stunden gestanden [1]) und dann, nachdem die Heizflamme gelöscht war, weitere 4 Stunden bei abnehmender Temperatur. Die nähere Untersuchung des Inhaltes der Gärprobegläser auf schleimig-fadenziehende Beschaffenheit ergab das überraschende Resultat, daß von den 20 Proben nur 3 frei von dem fraglichen Fehler waren, alle übrigen zeigten denselben mehr oder weniger ausgesprochen. Im übrigen war der Eindruck, den die Proben machten, kein ungünstiger. Keine derselben war durch starke Gasbildung ausgezeichnet, nur zwei oder drei zeigten sich so zersetzt, daß die Hauptmasse aus grünlichem Serum bestand, während das Kasein in kompakten Fetzen und Flocken ausgeschieden war. Von einer der am stärksten fadenziehenden Proben wurde ein Teil in ein sterilisiertes Reagenzglas aufgefangen zum Zweck der späteren Untersuchung im Laboratorium.

Am 21. Oktober ist also folgendes Untersuchungsmaterial gesammelt worden:

a) Klebrig-feuchte Bruchkörner eines 15 Stunden alten, fehlerhaften Käses der Käserei in H.;

b) Molken aus dem Innern eines verläufig normal scheinenden 5 Stunden alten Käses derselben Käserei;

c) Molken aus dem Innern eines etwa 6 Stunden alten Käses, einer unter normalen Verhältnissen arbeitenden Käserei in S.;

d) schleimig-fadenziehende Gärprobenmilch (36 Stunden bei 37—40° gestanden) des Lieferanten No. 3;

e) 27 Milchproben, entnommen aus sämtlichen, der zur Milcheinlieferung dienenden Tansen;

f) fehlerhaftes (fauliges) Käsestück eines 4 Monate alten Käses der Käserei in H.

Es war bei der großen Entfernung des Laboratoriums nicht möglich, die Proben in völlig frischem Zustand in Angriff zu nehmen. Am ältesten waren die 27 Milchproben, da dieselben schon am Morgen, etwa zwischen 6 und 8 Uhr gefaßt werden mußten. Sie mögen bei der Verarbeitung, die zwischen $5^1/_2$ und 7 Uhr Abends erfolgen konnte, immerhin 12 Stunden alt gewesen sein.

---

1) Gewöhnlich beurteilt man die Probe nach 12 und 24 Stunden. Der Käser wollte aber gefunden haben, daß für die sichere Beobachtung speziell des fraglichen Milchfehlers die Zeit vom 36 Stunden zweckmäßig abzuwarten sei.

Was nun die bei den einzelnen Materialien eingeschlagenen Kulturverfahren betrifft, so wurden mit a, b und c in je 3 Verdünnungen Molkengelatineplatten einerseits und anaërobe Kulturen in Milchzuckeragar (hohe Schicht) andererseits beschickt. Die letzteren standen bei 30° C. Für das Material d sind nur Milchzuckeragarkulturen in hoher Schicht zur Anwendung gekommen, weil sich bei den früheren vorläufigen Versuchen gezeigt hatte, daß der gesuchte schleimbildende Organismus auf diese Weise leicht und mit den charakteristischen Eigenschaften zu züchten ist. Aus diesem Grunde sind auch für die 27 Milchproben keine anderen als die letzterwähnten Kulturen verwendet worden, und zwar geschah die Aussaat ohne besondere Verdünnung mit je einer kleinen Platinöse. Unmittelbar nachher kamen die Milchproben in den auf 37—38° eingestellten Brutschrank, wo sie während 36 Stunden verblieben, entsprechend den in der Gärprobe bestehenden Verhältnissen.

Die Verarbeitung der Probe aus dem fehlerhaften 4 Monate alten Käse auf Milchzucker-Agarkulturen in hoher Schicht ist erst zwei Tage später erfolgt. Es sei hier schon erwähnt, daß die Bemühungen, in diesem Materiale fadenziehende Organismen derselben Art, wie sie in den jungen Käsen nachweisbar waren, resultatlos verlaufen sind. Dieser Befund ist in keiner Weise überraschend, denn gerade weil die fraglichen Organismen an höhere Temperaturen angepaßt sind, wie ihre mächtige Entfaltung in der Gärprobe und in den unter der Presse befindlichen noch sehr warmen Käsen beweist, konnten sie später nach erfolgter Abkühlung von anderen sich im Käse entwickelnden Kleinwesen überwuchert werden. Die Zersetzungsherde an der Oberfläche des Käses waren überhaupt auf Einflüsse sekundärer Natur zurückzuführen, die sich nur deshalb geltend machen konnten, weil aus angegebenen Gründen der Käse keine feste, sondern eine zu Rissen neigende Rinde bildete.

Ueber den Ausfall, der am 21. Oktober eingeleiteten Versuche geben die folgenden, dem Arbeitsprotokoll entnommenen Angaben den nötigen Aufschluß.

a) Bruchkörner aus einem 15 Stunden alten fehlerhaften Käse.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Dritte Verdünnung immer noch einige Tausend Kolonieen enthaltend. Ein Teil derselben fadenziehend, ob alle, läßt sich bei der Kleinheit der Kolonieen nicht entscheiden. Dünnes Scheibchen der Kultur, zwischen zwei Fingern gefaßt, zeigt bei Entfernung derselben das vom fehlerhaften Käse her bekannte Bild des Fadensystems.

Molkengelatineplatten. Zunächst in die Augen fallend einige oberflächliche Kolonieen, die bei näherer Untersuchung als Bacterium aërogenes angesprochen werden müssen. Neben diesen in der Gelatine eingeschlossen, findet sich eine entsprechende Zahl kugeliger, ca. 1 mm dicker Tiefenkolonieen. Die Hauptmasse wird gebildet durch kleinere, punktförmige Kolonieen. Eine größere Anzahl in hängenden Tropfen untersucht.

Kol. 1. Formen des Bact. Güntheri, nicht fadenziehend.
„ 2. Dieselben Formen; nicht fadenziehend.
„ 3. Ausgesprochene Sarcina; nicht fadenziehend.
„ 4. „ „ deutlich fadenziehend.
„ 5. Verflüssigend, besteht aus typischen Kokken, nicht fadenziehend.

Kol. 6. Nicht verflüssigend, typische Kokken; deutlich fadenziehend.
" 7. " " " " " " "
" 8. " " " " " " "

Noch 4 weitere Kolonieen zeigen dasselbe Verhalten. Die Platte enthält offenbar weniger Güntheri als Kokken, und zwar sind die ersteren nicht fadenziehend, wohl aber die letzteren.

b) Molken aus einem 5 Stunden alten, anscheinend normalen Käse.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Dritte Verdünnung enthält 70 Kolonieen. Unter den 4 zuerst untersuchten sind 2 fadenziehend, 2 nicht. Alle 4 bestehen aus den Formen des Bact. Güntheri und bilden längere Ketten.

Molkengelatineplatten. Nach 4 Tagen sind von 12 näher untersuchten Kolonieen 7 aus Kurzstäbchen bestehend, darunter nur eine Güntheri; 5 Kolonieen bestehen aus Kokken. Nach weiteren 2 Tagen treten die Kokkenkolonieen noch mehr hervor. Unter ihnen ist ein schleimig-fadenziehender Typus nicht selten; er ist vertreten durch gelbliche in etwas erweichter Gelatine liegende punktförmige Kolonieen.

c) Molken aus einem 6 Stunden alten normalen Käse.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. In der die günstigste Verdünnung enthaltenden Kulturröhre neben vereinzelten mindestens 1 mm großen Kolonieen einige Hundert sehr gleichmäßige ca. $^1/_4$ mm Durchmesser besitzende Punkte. Die großen, mit trüber Zone umgebenen Kolonieen bestehen aus regelmäßigen 3—4 μ langen, zum Teil in Ketten vereinigten unbeweglichen Stäbchen und gehören anscheinend zu dem im Emmentaler Käse so häufigen Typus der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien. Von den kleineren Kolonieen sind zunächst 10 näher untersucht worden. Keine war fadenziehend, hingegen gehörten sämtliche in den Formenkreis des Bact. Güntheri, so zwar, daß jede von ihnen ein etwas anderes Bild bot. Neben dem normalen Typus (vorwiegend Doppelstäbchen mit eingestreuten 4-gliedrigen Ketten) fanden sich Kolonieen mit auffallend viel langen Ketten, andere waren ausgezeichnet durch Neigung zur Bildung von Involutionsformen u. s. w. Eine spätere Untersuchung des Restes derselben Kultur ergibt ebenfalls Abwesenheit von schleimbildenden Kolonieen, im übrigen Vorherrschen der Güntheri-Formen. Als Unterschied gegenüber dem Versuchsmaterial b könnte genannt werden, daß die Kolonieen relativ häufiger aus Doppelstäbchen und wenigen kurzen Ketten sich zusammenzusetzen scheinen, doch ist festzustellen, daß auch hier Kolonieen mit zahlreichen und langen Ketten nicht selten sind und daß sich dieselben durch nichts als durch den Mangel der fadenziehenden Beschaffenheit von gewissen Kolonieen der Materialien a und b unterscheiden.

Molkengelatineplatten. Unter zahlreichen geprüften Kolonieen einer mit 200—300 Kolonieen besetzten Platte erweist sich keine als fadenziehend. Von 10 im hängenden Tropfen untersuchten Kolonieen ist nur eine an Güntheri erinnernd, die übrigen bestehen aus Hefen, Kokken und walzenförmigen unbeweglichen Kurzstäbchen. Auf letztere entfallen 20—30 % sämtlicher Kolonieen.

d) Fadenziehende Gärprobenmilch des Lieferanten No. 3.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Eine 150 Kolonieen enthaltende Kulturröhre (2. Verdünnung) wird im Alter von 2 Tagen untersucht. Unter 8 Kolonieen zeigt sich eine deutlich fadenziehend. Sie ist aus etwas gedrungenen Güntheri-Formen zusammengesetzt. Unter den 7 nicht fadenziehenden Kolonieen befinden sich 3 Langstäbchen und 4 Güntheri. Nach weiteren 4 Tagen wird die inzwischen besser entwickelte, nur 5 Kolonieen enthaltende Kulturröhre 3. Verdünnung untersucht mit folgendem Ergebnis:

Kol. 1. Klein, höchstens $^1/_5$ mm Durchmesser, besteht aus 3—10 μ langen unbeweglichen Stäbchen.
" 2. Linsenförmig, über 1 mm Durchmesser, nicht schleimig, besteht aus Güntheri-Formen mit vielen kurzen Kettchen.
" 3. Ebenso, etwas verknäuelt, aber deutlich Güntheri.
" 4. Ebenso, stark verknäuelt, bröckelig, sonst deutlich Güntheri.

Kol. 5. Ebenfalls große Kolonie, aus Güntheri-Formen bestehend, ohne lange Ketten, stark schleimig, 5—6 cm lange Fäden liefernd!

Ueberblicken wir einmal vorläufig diese Ergebnisse, so finden wir dieselben mit den Erwartungen, die man auf Grund des ursprünglichen Befundes jener Untersuchung vom 15. Oktober hegen durfte, so ziemlich in Uebereinstimmung. Ein dem damals isolierten schleimbildenden Stäbchen in jeder Beziehung entsprechender Organismus wurde auch diesmal in dem 15 Stunden alten Käse gefunden. Die jedenfalls berechtigte Vermutung, daß derselbe Organismus auch in dem nur 5 Stunden alten Käse enthalten sein müsse, obwohl derselbe irgendwelche abnormale Eigenschaften noch nicht erkennen ließ, fand ihre Bestätigung in dem Befunde beim Untersuchungsmaterial b, das nebenbei auch erkennen ließ, daß nebeneinander fadenziehende und nicht fadenziehende Kolonieen vorkamen, die nach der Form der sie zusammensetzenden Elemente nicht zu trennen waren. Ferner hat der aus normalem jungen Käse einer anderen Käserei abgepreßte Saft die erwähnten schleimbildenden Bakterien nicht enthalten, ja es gelang überhaupt nicht, in diesem Material schleimbildende Organismen irgendwelcher Art nachzuweisen. Endlich ist aus der stark schleimigen Gärprobenmilch des Lieferanten No. 3, wo der Schädling seine charakteristische Eigenschaft in typischer Weise entfaltet hatte, mit Hilfe der Kultur in hoher Schicht derselbe Schleimbildner isoliert worden, der aus den beiden jungen Käsen durch dasselbe Kulturverfahren in Reinkultur gewonnen werden konnte.

Die Klarheit dieser Ergebnisse mit Rücksicht auf die Frage nach dem Urheber des Milch- resp. des Käsefehlers ist besonders in die Augen springend, wenn man nur die Kulturen in hoher Schicht vergleicht. Zieht man aber zur Beurteilung der Frage die Plattenkulturen mit heran, so kann man nicht umhin, auch die Bedeutung jener schleimbildenden Kokken in Erwägung zu ziehen, die sich in den fehlerhaften Käsen offenbar in großer Zahl vorfanden. Noch auffälliger wird dieses Vorkommnis durch den Umstand, daß diese Kokken in dem normalen jungen Käse zu fehlen scheinen. Unter solchen Umständen war es natürlich naheliegend, an einen Zusammenhang dieser fadenziehenden Kokken mit der klebrig-fadenziehenden Beschaffenheit des jungen Käses zu denken, wenn auch die letztere eine ausreichende Erklärung bereits in dem Nachweis der fadenziehenden Stäbchen vom Typus des Bact. Güntheri gefunden hatte. Die beiden Organismengruppen konnten sich in ihrer Wirkung im Sinne einer Summierung gegenseitig unterstützen, oder die eine konnte vielleicht durch die andere auf Grund eines symbiotischen Verhältnisses bezüglich des Schleimbildungsvermögens direkt gefördert werden. Die Tatsache, daß Reinkulturen des schleimbildenden Bact. Güntheri bei Ueberimpfung auf sterilisierte Milch diese nicht fadenziehend machen konnten, ließ eine solche Vermutung als nicht zum vorneherein abweisbar erscheinen. Vorläufig mußten allfällige Versuche nach dieser Richtung in den Hintergrund treten und es blieb nur die Tatsache zu konstatieren, daß in den jungen fehlerhaften Käsen

neben charakteristischen schleimbildenden Stäbchen auch schleimbildende Kokken in großer Zahl vertreten waren, während beide Organismen in einem zum Vergleich herangezogenen jungen normalen Käse fehlten. Ob auch in der fadenziehenden Gärprobemilch des Lieferanten No. 3 die fadenziehenden Stäbchen von fadenziehenden Kokken begleitet waren, konnte leider nicht entschieden werden, indem mit diesem Materiale keine Plattenkulturen angelegt waren. Die letzteren sind es aber, welche die Entwickelung der Kokken außerordentlich begünstigen und die fadenziehenden Stäbchen kaum als solche erkennen lassen, während die Kulturen in hoher Schicht, die hier allein Anwendung fanden, umgekehrt die Kokken unterdrücken und den Nachweis der fakultativ anaëroben, schleimbildenden Stäbchen ermöglichen.

Es erübrigt noch, den Ausfall der Versuche zu besprechen, die mit den aus der Käserei mitgebrachten 27 Milchproben vorgenommen worden sind.

e_1) Verhalten der 27 Milchproben bei 40-stündigem Aufenthalt im Wärmeschrank bei 38° C.

Wenn man sich jenes Gärprobenresultat vergegenwärtigt, von dem ich gelegentlich der Probenahme in der Käserei Kenntnis nehmen konnte und laut welchem von 20 Lieferanten 17 fadenziehende Milch geliefert hatten, so mußte die Aussicht, wenigstens in einigen der mitgebrachten Proben den Schädling nachzuweisen, nicht gering erscheinen. Eine erstmalige Prüfung einiger der Proben auf schleimige Beschaffenheit nach 24-stündigem Aufenthalt im Wärmeschrank, verlief indessen vollständig negativ, aber auch nach 36 Stunden, also nach der Zeit, die nach dem Urteil der Praktiker für die Beobachtung des vorliegenden Fehlers am günstigsten sein sollte, zeigten sämtliche Proben mit einer einzigen Ausnahme keine Spur von fadenziehender Beschaffenheit. Die Ausnahme betraf die Probe aus der Tanse 3, während 3a von demselben Lieferanten den Fehler nicht erkennen ließ. Uebrigens war derselbe auch bei 3 nur schwach, aber immerhin deutlich vorhanden. Das Gesamtergebnis war doch einigermaßen überraschend. Das auf Anwendung der Bruttemperatur gegründete Anreicherungsverfahren, das in Form der Gärprobe in der Käserei so sprechende Resultate zu Tage förderte, hatte im Laboratorium im Stich gelassen. Denn daß der gesuchte Organismus ursprünglich wenigstens in einigen Proben vorhanden gewesen ist, schien mir ziemlich sicher zu sein. Ich führte den negativen Ausfall dieser „Laboratoriumsgärproben“ vorläufig auf den Umstand zurück, daß die betreffenden Milchen vor der Einstellung in den Wärmeschrank etwa 12 Stunden bei einer Temperatur von 15—18° C verbracht haben, wobei gewisse Bakterien sich vermehren konnten, die später bei der höheren Temperatur im Vorsprung waren und dem Schädling das Aufkommen nicht gestatteten. Eine andere Erklärung, die auch eine gewisse Berechtigung hat und durch später zu erwähnende Versuche an Wahrscheinlichkeit gewinnt, wäre die, daß

der gesuchte, schleimbildende Organismus in so geringer Menge durch die frische Milch in die Käserei gelangte, daß Proben von 15—20 ccm, wie ich sie in die sterilen Reagenzgläser fassen ließ, zu klein waren, um durch Anreicherung die Anwesenheit der betreffenden Keime konstatieren zu können, während die über 100 ccm fassenden Käsereigärproben demselben Zweck im allgemeinen genügten.

e_2) Verhalten der 27 Milchproben bei Ueberimpfung auf Milchzuckeragar in hoher Schicht.

Unter den soeben erwähnten Umständen konnte die Prüfung der in den Kulturröhren entwickelten Kolonieen auf fadenziehende Beschaffenheit von vorneherein als aussichtslos betrachtet werden. Es wurde daher einzig die der schwach fadenziehend gewordenen Milchprobe 3 entsprechende Milchzuckeragarkultur genau untersucht. Von den 10 vorhandenen Kolonieen war keine fadenziehend. Fünf im Hängetropfen untersuchte bestanden aus Kokken, eine sechste aus kurzen, gedrungenen, zum Teil in längere Ketten vereinigten Güntheri-Formen. Auf der oberen freien Fläche des Agars fand sich ein weißer, deutlich fadenziehender Belag, der ebenfalls aus Kokken bestand. Möglicherweise war die schwach ausgeprägte, schleimige Beschaffenheit der Milch No. 3 überhaupt auf Kokken und nicht auf das in Frage stehende schleimbildende Stäbchen zurückzuführen. Doch ist aus der Tatsache, daß die letzteren in der zur Aussaat gelangten Milchmenge sicher nicht vorhanden waren, selbstverständlich ein Schluß auf die Abwesenheit desselben Organismus in der mitgebrachten Milchprobe nicht zulässig.

Nach dem über die Verarbeitung der verschiedenen am 21. Oktober gesammelten Versuchsmaterialien Gesagten, beschränken sich also die tatsächlichen Feststellungen auf den Nachweis des am 15. Oktober in einer fehlerhaften Käseprobe derselben Käserei gefundenen schleimbildenden Kurzstäbchens in 15 und 5 Stunden altem Käse, wie auch in einer ausgesprochen fadenziehenden Gärprobenmilch. Dieses Kurzstäbchen war in einem 6 Stunden alten Käse einer normal arbeitenden Käserei nicht zu finden. Vorläufig nicht abgeklärt war die Frage, ob die bei den fehlerhaften Käsen mit Hilfe gewöhnlicher Plattenkulturen nachgewiesenen Kokken zu dem Auftreten des Fehlers oder zu der Aeußerung der schleimbildenden Tätigkeit des erwähnten Kurzstäbchens in irgend einer Beziehung standen. Ebenfalls unbeantwortet war aus oben angeführten Gründen die Frage geblieben, ob viele oder wenige, bezw. welche der Lieferanten eine mit dem fraglichen Fehler behaftete Milch in die Hütte brachten. Diese Lücken auszufüllen, sollte die Aufgabe einer weiteren Versuchsserie sein. Gleichzeitig sollten bei dieser Gelegenheit schon früher mit wenig Erfolg unternommene Bemühungen, den Fehler durch successive Ueberimpfungen auf Milch in einer größeren Reihe von Proben zu verpflanzen, fortgesetzt und womöglich die Aufgabe gelöst werden, mit Hilfe von Reinkulturen der fadenziehenden

Bakterien das Bild des in der Käserei aufgetretenen Fehlers in einer beliebigen Milch in typischer Weise hervorzurufen.

3. Probematerial vom 30. Oktober.

Auch diesmal hatte ich dafür gesorgt, daß die Probenahme mit einer Beurteilung der Milch durch die Gärprobe verbunden werden konnte. Da ich nun Grund hatte zu vermuten, daß in früheren Fällen bei der Beschickung und Einsetzung der Gärproben nicht immer jene Vorsicht gewaltet hat, ohne welche diese Prüfungsmethode in den Händen des Praktikers leicht zu groben Irrtümern Veranlassung geben kann, so sterilisierte ich die Probegläser vorher im Laboratorium und schickte dieselben unter Watteverschluß samt den sterilisierten Verschlußdeckeln und der nötigen schriftlichen Weisung in die Käserei. Die Entnahme der Milchproben aus den einzelnen Tansen ist dort, wie man mir nachträglich versicherte, genau nach meiner Anleitung erfolgt. Wie in den früheren Fällen, ist das Wasser des Probekastens während 36 Stunden bei 37—40° C gehalten worden. Die Proben stammten von der Abendmilch des 28. Oktober und hatten also bei meiner Ankunft am Mittag des 30. Oktober ein Alter von ungefähr 40 Stunden. Die Prüfung auf fadenziehende Beschaffenheit ergab jetzt ein wesentlich anderes Resultat, als man auf Grund des 9 Tage früher konstatierten Befundes hätte erwarten müssen. Damals war bei 17 von 20 Lieferanten die Milch fadenziehend gewesen, diesmal ließ sich die fatale Eigenschaft nur bei 7 Milchproben erkennen und diese entfielen auf nur 5 Lieferanten. Die betreffenden Notizen lauten:

3a und 3b	ziemlich	stark	fadenziehend
4a und 4b	weniger	„	„
9a	„	„	„
13	„	„	„
18	sehr	wenig	„

Die Milch No. 3 hat also auch in diesem Falle eine Sonderstellung eingenommen. Es ist dieselbe, welche als einzige bei der im Laboratorium vorgenommenen Prüfung der 27 Proben vom 21. Oktober schleimige Beschaffenheit, wenn auch in geringem Grade gezeigt hat. Auch bei früheren, in der Käserei vorgenommenen Untersuchungen durch die Gärprobe hat diese Milch sich immer unter den stark fehlerhaften befunden. Bemerkenswert ist ferner, daß von beiden Tansen des Lieferanten No. 9 nur in einer das Vorhandensein des Fehlers durch die Gährprobe angezeigt wurde. Das würde darauf hindeuten, daß nur ein Teil der aus dem betreffenden Stall stammenden Milch als infiziert zu betrachten war.

Die Probenahme beschränkte sich diesmal auf fadenziehendes Serum aus den Gärprobegläsern 3b und 4a, auf nicht fadenziehendes Serum zweier den Fehler nicht aufweisenden Gläser und endlich auf eine geringe Menge fadenziehenden Quarks aus dem unter der Presse befindlichen, am vorhergehenden Abend bereiteten Käse.

Die Verarbeitung dieser zwischen 1 Uhr und 2 Uhr mittags in der Käserei erhobenen 5 Proben konnte im Laboratorium gegen 6 Uhr abends beginnen. Jede derselben ist in 3 Verdünnungen sowohl zur Anwendung von Molkengelatineplatten, als auch für Milchzuckeragarkulturen in hoher Schicht verwendet worden.

Die möglichst vollständige Untersuchung der nach beiden Verfahren zur Entwickelung gelangten Kolonieen hat zu folgendem, hier auszugsweise mitgeteilten Ergebnis geführt.

a) 15 Stunden alter, fehlerhafter Käse.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Von den 12 Kolonieen der 3. Verdünnung ist keine fadenziehend. Unter den ca. 1500 Kolonieen der 2. Verdünnung erweisen sich die ersten 10 geprüften als nicht fadenziehend, die 11. Kolonie ist sehr schön fadenziehend, weitere 16 Kolonieen versagen, während die 17. die fragliche Eigenschaft in schönster Weise zeigt. Die fadenziehenden, wie auch die meisten nicht fadenziehenden Kolonieen sind aus zelligen Elementen, die dem Bact. Güntheri entsprechen, zusammengesetzt.

Molkengelatinepatten. Scheinbar nur auf den Platten erster und zweiter Verdünnung Wachstum eingetreten. Auf letzteren über ein Dutzend Kolonieen, von denen die meisten als typische Bact. Güntheri anzusprechen sind. Fadenziehende Eigenschaft bei keiner beobachtet. Bei der ersten Verdünnung, die einige Tausend Kolonieen entwickelt hat, treten Kokken in den Vordergrund. Es ist unter denselben ein fadenziehender neben einem nicht fadenziehenden Typus zu unterscheiden.

b) Fadenziehendes Serum aus abnormaler Gärprobenmilch.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Uebereinstimmend zeigen die beiden aus verschiedenen Milchproben (3b und 4a) stammenden Kulturen dritter Verdünnung eine beschränkte Zahl relativ großer, etwa 1 mm Durchmesser erreichender Kolonieen, welche sämtlich in schönster Weise schleimig fadenziehend sind. Dies zeigt sich in charakteristischer Weise, wenn man die die in einzelnen Kolonieen enthaltenden Agarscheibchen so spaltet, daß die Kolonie von der Spaltungslinie getroffen wird. Beim Entfernen der Teilstücke des Agars bleiben die Teilstücke der Kolonie durch einen 1—2 cm langen Schleimstrang miteinander verbunden. Noch schöner tritt die schleimige Beschaffenheit im sogen. Kondenswasser hervor, das sich zwischen Agar und Glaswand nach und nach ansammelt. Bei der einen der hier erwähnten anscheinend eine Reinkultur des schleimbildenden Organismus darstellenden Agarröhre ist es mir gelungen, aus dem Kondenswasser Fäden von 13 cm Länge zu erhalten!

Molkengelatineplatten. Uebereinstimmend zeigen die aus den 2 Milchproben 3b und 4a stammenden Platten als vorherrschenden, aber dem bloßen Auge kaum sichtbaren Kolonieentypus feinste Pünktchen, die aus Formen des Bact. Güntheri zusammengesetzt sind. Fadenziehende Beschaffenheit ist bei der außerordentlichen Kleinheit der Kolonieen, die nach 5 Tagen kaum 0,1 mm Durchmesser erreicht haben, nicht festzustellen. Sie war übrigens auch an Kolonieen dieser Art, welche nach beinahe drei Wochen einen Durchmesser von 0,4 mm erreicht hatten, nicht nachweisbar. Nichtsdestoweniger spricht die gute Uebereinstimmung der Kolonieenzahlen in Hinsicht auf die bei beiden Kulturmethoden in gleicher Weise vorgenommenen Verdünnungen ganz deutlich dafür, daß die winzigen, nicht fadenziehenden Kolonieen der Molkengelatineplatten identisch sind mit den großen fadenziehenden Kolonieen der Milchzuckeragarkulturen in hoher Schicht. Was die bezüglich der Häufigkeit des Vorkommens in zweiter Linie stehenden Arten, also die wichtigsten Begleiter des schleimbildenden Organismus betrifft, so waren es bei 3b gewöhnliche Güntheri, bei 4a hingegen Bac. acidi lactici Hüppe, mit anderen Worten, die mit 3b hergestellten Platten machten bei oberflächlicher Betrachtung den Eindruck einer Güntheri, die mit 4a hergestellten den Eindruck einer acidi lactici-Platte. Flächenhaft entwickelte Kolonieen waren übrigens in geringer Zahl auch auf den dichter besetzten Platten, die aus der Milch 3b stammten, vorhanden. Fadenziehende Kokken sind in keinem Fall beobachtet worden.

(Schluß folgt.)

Der Gaswechsel abgetöteter Hefe (Zymin) auf verschiedenen Substraten.

[Aus dem pflanzen-physiologischen Institut von Prof. Dr. W. Palladin an der St. Petersburger Universität.]

Von **L. Telesnin.**

Mit 3 Figuren.

Die bemerkenswerten Untersuchungen E. Buchners und seiner Mitarbeiter haben einen der typischsten Lebensprozesse der Hefezelle — ihr Vermögen, Zucker zu vergären — auf die tote Einwirkung eines unorganisierten Ferments zurückgeführt und dadurch die Möglichkeit geschaffen, mit voller Bestimmtheit an die Lösung einer Reihe von Fragen heranzutreten, die früher unlöslich mit dem Begriff des Lebens verknüpft waren. Hierdurch erklärt sich unzweifelhaft das große Interesse, mit welchem die gelehrte Welt die Entdeckung Buchners begrüßt hat. Es ist daher auch sehr begreiflich, daß die Untersuchung des von Buchner erhaltenen Preßsaftes [1]), sowie der späterhin von ihm dargestellten verschiedenen Trockenpräparate zum Gegenstande einer Reihe von Arbeiten gemacht wurde.

Obgleich auch früher schon Aeußerungen in diesem Sinne gemacht worden sind, — so behauptete Moritz Traube schon im Jahre 1858, es müsse sich in der Hefezelle, zusammen mit anderen Verbindungen, ein Stoff befinden, welcher den Gärungsprozeß hervorruft; Pasteur war eine Zeitlang mit der Darstellung des Gärungsenzyms beschäftigt, welches er Alkoholase nannte; eine ganze Reihe anderer Gelehrter versuchte vergebens, dieses Enzym auszuscheiden — rief dennoch die glückliche Lösung durch Buchner eine ganze Reihe von Angriffen und Entgegnungen hervor. Buchner blieb jedoch hierbei nicht stehen und untersuchte gemeinsam mit Rapp und Albert die Methoden zur Erhaltung dieses Enzyms, welchem er den Namen Zymase gab, seine Eigenschaften und den Einfluß äußerer Bedingungen. Zur Zeit haben wir mehrere Methoden [2]), unter welchen durch Leichtigkeit und allgemeine Zugänglichkeit die Herstellung der sogenannten Dauerhefe sich auszeichnet. (Hefe, welche durch Aceton getötet, das Vermögen, sich zu vermehren, eingebüßt, die Gärkraft aber beibehalten hat.) Dieses Präparat ist bereits bei Schroder [3]) unter dem Namen Zymin im Verkauf erschienen. Auf diese Weise haben wir jetzt die Möglichkeit, die Gärungserscheinungen gesondert von den Lebenserscheinungen der Zelle zu untersuchen.

Auf Vorschlag und unter Leitung des Herrn Prof. W. Palladin stellte ich eine Reihe von Versuchen an, um das Verhältnis des Zymins zu verschiedenen Kohlehydraten genauer festzustellen.

1) Buchner, C., Berichte der d. chem. Ges. 1897.
2) Buchner, Die Zymasegärung. 1903.
3 München, Landwehrstraße 45.

Außerdem stellte ich mir das Ziel, die von Buchner gar nicht berührte Frage zu beantworten, welche Veränderungen der Gärungskoëffizient $\frac{CO_2}{O_2}$ auf verschiedenen Zuckerarten, sowie im Falle der Selbstgärung auf Wasser, Laktose und den Alkoholen erleidet. Zuerst erhielt ich mittels der sogenannten Methode Rapp[1]) Zymin. Das von mir bereitete Präparat offenbarte alle charakteristischen Eigenschaften des Zymins (Versuch No. 10). Da ich zu meinen Arbeiten verhältnismäßig große Mengen von gleichmäßigem Zymin brauchte, so verschrieb ich dieses Präparat von Schroder. Die Lösungen verschiedener Zuckerarten, wie Glukose, Fruktose, Maltose, Saccharose und Raffinose, sowie einiger Alkohole, wie Mannit, Weingeist und Glycerin, wurden in $^1/_2$ normaler Konzentration angewandt. Außerdem wurden einige Versuche mit 1 proz. Lösung von salzsaurem Chinin angestellt. Ein Teil der Versuche wurde mittels der Rollkultur, ein anderer in Kolben mit 2 Abführungsröhrchen, welche durch Quecksilber verschlossen waren, ausgeführt. In beiden Fällen hatte ich auf eine vollständige Aëration abgezielt. Alle Gefäße, sowie die Lösungen wurden im Autoklaven, bei 120° sterilisiert. Da das Raffinosepräparat von Kahlbaum, bis auf 100° erhitzt, bereits die Fehlingsche Lösung reduziert, was auf die beginnende Zersetzung dieses höchst komplizierten Kohlehydratmoleküls hinweist[2]), so mußte ich die kalte Sterilisation

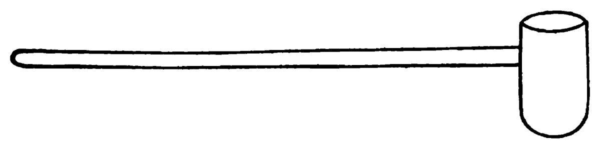


Fig. 1.

durch ein Chamberland-Licht anwenden. Nach Beendigung der Versuche wurde das Zymin unter dem Mikroskop untersucht. Außerdem wurde es von Zeit zu Zeit auf frisches Nährsubstrat übergeführt. Eine Infektion wurde sehr selten beobachtet, bloß einige Mal, und die entsprechenden Versuche wurden verworfen. Da zum Vergleiche immer ein und dieselbe Menge Zymin genommen werden mußte, beim Abwägen aber leicht eine Infektion stattfinden konnte, so wandte ich ein gläsernes Maß an, welches vor dem Gebrauch auf trockenem Wege sterilisiert wurde (Fig. 1).

Mit Hilfe dieses Maßes konnte man die ganze Aussaat in dem mit Sublimat gewaschenen Hansenschen Glaskasten unter den Bedingungen vollkommenster Sterilität vornehmen.

1) Albert, R., Buchner, E. und Rapp, R., Berichte der d. chem. Ges. Bd. XXXV. 1902.

2) Bekanntlich gibt die Raffinose bei ihrer Hydrolyse Glukose, Galaktose und Fruktose. Zuerst wird die Fruktose abgespaltet und es verbleibt Melibiose

$$C_{18}H_{32}O_{16} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{12}H_{22}O_{11}$$

Darauf zerfällt die Melibiose in Fruktose und Galaktose

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6.$$

Bei der Methode der Rollkultur wurden die Versuche in Probierröhrchen von 20 ccm Inhalt ausgeführt. Die Kohlehydratlösungen zusammen mit der Gelatine, von welcher 16 Proz. hinzugefügt wurden, wurden in die Probierröhrchen gegossen und die letzteren darauf durch fließenden Dampf sterilisiert. Hierauf wurde das trockene Zyminpulver in das Probierröhrchen mit der bis auf 40° erhitzten Gelatine eingetragen und herumgeschüttelt. Aus dieser Lösung wurde die Rollkultur hergestellt. Die folgenden Manipulationen bestanden darin, daß der Wattepfropfen abgenommen, die Probierröhrchen durch Quecksilber verschlossen, und über das letztere darauf kochendes Wasser eingeführt wurde.

Bei den Versuchen in den Kolben (Fig. 2) wurde die anfängliche Erhitzung der Lösung, welche eine intensive Tätigkeit des Enzyms hervorrief, vollständig beseitigt. Eine abgemessene Menge des Zymins wurde unter sterilen Bedingungen in den Kolben eingetragen und dort auseinander gemischt. Der Kolben wurde, wie aus der Zeichnung ersichtlich, durch einen Kautschuckpfropfen mit 2 Glasröhrchen, über welchem Quecksilber aufgegossen war, verschlossen; in den Glasröhrchen, welche am Ende durch Klemmschrauben verschlossene Kautschukschläuche trugen, befand sich ebenfalls Quecksilber. Dadurch war eine vollständige Isolierung des Gasgemisches innerhalb des Kolbens erreicht. Die Gasproben analysierte ich anfänglich mit dem Apparat von Bonnier und Mangin, vervollkommnet durch Baranetzky; später ging ich auf den Apparat von Polowzow[1]), welcher durch Herrn Richter für die Explosion angepaßt worden ist[2]), über. Der Prozentgehalt des Gasgemisches an CO_2, O_2 und N_2 wurde aus den Resultaten zweier aufeinanderfolgender Analysen einer und derselben Gasprobe bestimmt, wobei der Unterschied zweier Bestimmungen eines Gases 0,05 Proz. nicht übersteigen durfte.

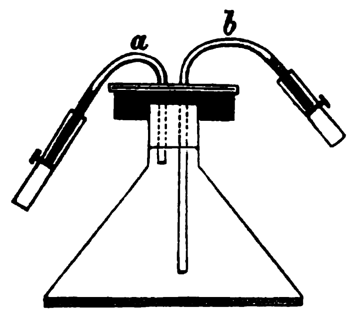


Fig. 2.

Indem ich die Zusammensetzung des anfänglichen Gemisches als normale Luft nach Bunsen annahm, bestimmte ich nach der Formel

$$\frac{CO_2}{O_2} = \frac{a}{c\frac{20,96}{79,04} - b}$$

das Verhältnis der ausgeschiedenen Kohlensäure zur Menge des verbrauchten Sauerstoffes

1) Polowzow, Untersuchungen über die Pflanzenatmung. St. Petersburg 1901. [Russisch.]

2) Richter, Protokoll d. St. Petersburger Naturf. Gesellsch. Sekt. Botanik. 1903.

a der Prozentgehalt an CO_2 } in der analysierten Gasprobe.
b „ „ „ O_2
c „ „ „ N_2

Bei der Einwirkung des Zymins auf Zucker werden riesige Mengen Kohlensäure frei, welche den Druck stark erhöhen, wie an dem Manometer zu ersehen war (die vorläufigen Versuche stellte ich mit denselben Kolben an, wobei jedoch die Röhre a durch ein Manometer ersetzt war). Daher mußte ich, um die allzustarke Absorption der Kohlensäure durch die Flüssigkeit bei hohem Drucke zu vermeiden, die Luft in den Kolben vorläufig verdünnen. Auf die Vergleichbarkeit der Resultate muß dieser Umstand keinen Einfluß haben, da ich zu ein und derselben Zeit eine ganze Serie von Versuchen austellte, wobei ich sie täglich auf ein und dasselbe Gasvolumen verdünnte; infolgedessen sind die Resultate einer bestimmten Serie vollständig vergleichbar untereinander.

In denjenigen Versuchen, in welchen ich als zu vergärendes Material Zucker nahm, wurde, jedesmal nachdem eine Probe genommen war, ungefähr eine Stunde lang Luft durch den Kolben hindurchgesogen, um die Kohlensäure zu entferneu und sie durch Normalluft zu ersetzen. Darauf verschloß ich die Kolben wiederum durch Quecksilber bis zur nächsten Probe nach 24 Stunden.

Da bei dem Vermischen des Zymins mit destilliertem Wasser sich deutlich Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureausscheidung bemerkbar machen, so benutzte ich diesen Versuch zum Vergleich, um den genannten Prozeß zu eliminieren.

Die Versuche mit der Rollkultur, desgleichen die in den Kolben, wurden bei Zimmertemperatur von 17—20° C angestellt. Die zerstörende Wirkung der Endotryptase macht sich auf anschauliche Weise an der Gelatine bemerkbar, da dieselbe 43 bis 72 Stunden nach Beginn des Versuchs von den Wänden des Probiergläschen herabzugleiten beginnt, infolge der Wirkung des proteolytischen Ferments.

I. Destilliertes Wasser.

1. Versuch.

Rollkultur: 2 ccm Wasser + 16 Proz. Gelatine + 0,215 g Zymin verschlossen am 14. Oktober um 5 Uhr nachmags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 18 Stunden	17,38	15,63	66,99	7,4
„ 43 „	25,73	14,12	60,15	14,0
„ 67 „	27,09	13,88	59,03	15,3

Die erste Portion von Zymin[1]). Nach 43 Stunden war die ganze Gelatine verflüssigt infolge der Wirkung der Endotryptase.

2. Versuch.

Rollkultur: 2 ccm Wasser + 16 Proz. Gelatine + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 19. Oktober um 12 Uhr.

1) Zymin war zweimal gekauft.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	5,40	18,57	76,03	3,3
„ 9 „	14,14	16,33	69,53	6,7
„ 24 „	29,19	12,37	58,44	9,3
„ 48 „	32,63	11,59	55,78	10,2
„ 72 „	33,47	11,31	55,22	10,1

Die erste Portion Zymin. Nach 48 Stunden war die Gelatine verflüssigt.

3. Versuch.

Kolben: 10 ccm destilliertes Wasser + 1 g Zymin. Verschlossen am 14. November um 2½ Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	3,51	19,74	76,75	5,8
„ 24 „	8,66	17,86	73,48	5,4
„ 48 „	9,25	17,65	73.10	5,3
„ 72 „	9,89	17,02	73,10	4,1

Die zweite Portion Zymin.

4. Versuch.

Kolben: 10 ccm Wasser + 1 g Zymin. Verschlossen am 25. November um 12½ Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	7,92	18,24	73,84	5,9
„ 48 „	8,71	17,98	73,31	5,9
„ 72 „	—	—	—	—
„ 96 „	9,35	17,85	72,80	6,4

Die zweite Portion Zymin.

5. Versuch.

Kolben: 10 ccm Wasser + 1 g Zymin. Verschlossen am 10. Dezember am 12 Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	6,74	18,48	74,78	4,6
„ 48 „	1,09	20,13	78,78	1,4
„ 72 „	0,67	20,25	79,08	0,9

Die zweite Portion Zymin. Nach jeder Probe wurde im Laufe 1 Stunde Luft durch den Kolben hindurchgesaugt.

II. Mannit.

6. Versuch.

½-normale Lösung: auf 100 ccm Wasser 9,10 g + 16 Proz. Gelatine. Rollkultur. 2 ccm Lösung + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 9. Oktober um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 20 Stunden	26,29	13,37	60,34	10,0
„ 44 „	36,15	10,76	53,09	10,9
„ 68 „	38,16	10,09	51,75	10,5
„ 92 „	39,17	9,54	51,29	9,6

Die erste Portion Zymin; 68 Stunden nach Beginn des Versuchs war die Gelatine verflüssigt.

7. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 9,10 g Mannit.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 3. Dezember um 12 Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	7,44	18,41	74,15	5,9
„ 48 „	8,07	18,18	73,75	5,8
„ 72 „	8,13	18,13	73,74	5,6

Die zweite Portion Zymin.

III. Glycerin.

8. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 2,25 g Glycerin.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 0,215 g Zymin + 16 Proz. Gelatine. Verschlossen am 29. September um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 46 Stunden	26,47	13,47	60,06	10,8
„ 67 „	27,36	12,13	59,51	10,3

Die erste Portion Zymin; nach 48 Stunden Verflüssigung der Gelatine.

9. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 2,25 g Glycerin.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 0,215 g Zymin + 16 Proz. Gelatine. Verschlossen am 29. September um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 46 Stunden	29,63	12,66	58,71	9,8

Die erste Portion Zymin. Nach 48 Stunden Verflüssigung der Gelatine.

10. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 2,25 g Glycerin + 16 Proz. Gelatine.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 29. September um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 67 Stunden	31,93	10,51	56,56	6,7

Von mir bereitetes Zymin. Nach 48 Stunden Verflüssigung der Gelatine.

11. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 4,5 g Glycerin.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 14. November um $2^1/_2$ Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	4,14	19,26	76,60	4,2
„ 24 „	—	—	—	—
„ 48 „	9,10	17,67	73,23	5,4
„ 72 „	9,32	17,52	73,16	5,0

Die zweite Portion Zymin.

12. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 4,5 g Glycerin.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 25. November um $12^1/_2$ Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	7,83	18,26	73,91	5,8
„ 48 „	8,62	17,80	73,58	5,0
„ 72 „	8,92	17,69	63,39	5,0
„ 96 „	8,98	17,64	73,38	4,9

Die zweite Portion Zymin.

VI. Aethylalkohol.

13. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 3,0 ccm Alkohol.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 6. Dezember um 12 Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	7,67	17,97	74,36	4,4
„ 48 „	8,06	17,86	74,08	4,5

Die zweite Portion Zymin.

V. Wasser + 1 Proz. salzsaures Chinin.

14. Versuch.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 11. Dezember um 4 Uhr nachmittags..

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	3,85	18,77	77,38	2,2
„ 48 „	5,21	17,82	76,97	2,0
„ 72 „	5,61	17,45	76,94	1,9

Die zweite Portion Zymin.

VI. Laktose.

15. Versuch.

Auf 100 ccm 18,00 g Laktose.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 6. Dezember um 12 Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	7,21	18,62	74,17	6,8
„ 48 „	7,88	19,09	74,03	5,1
„ 72 „	8,16	17,80	74,04	4,4

Die zweite Portion Zymin.

VII. Glukose.

16. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 9,00 g Glukose.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 16 Proz. G. + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 14. Oktober um 5 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 18 Stunden	38,90	11,86	49,24	32,4
„ 43 „	48,22	10,30	41,48	68,8
„ 67 „	49,04	9,56	41,40	34,5

Die erste Portion Zymin. Nach 43 Stunden begann die Gelatine sich zu verflüssigen.

17. Versuch.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 16 Proz. G. + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 19. Oktober um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 9 Stunden	26,83	14,41	58,76	22,9
„ 24 „	44,05	10,89	45,06	41,5
„ 48 „	51,95	9,08	38,97	41,6
„ 72 „	53,95	8,34	37,71	32,3

Die erste Portion Zymin. Nach 70 Stunden war die ganze Gelatine verflüssigt.

18. Versuch.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 16 Proz. G. + 0,215 g Zymin. Verschlossen am 25. Oktober um 12½ Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	11,46	18,09	70,50	17,6
„ 24 „	39,34	12,35	48,31	85,4
„ 48 „	48,26	10,25	41,49	64,3
„ 72 „	50,64	9,39	39,37	41,8

Die zweite Portion Zymin. Nach 48 Stunden Verflüssigung der Gelatine.

19. Versuch.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 25. November um 12½ Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	31,42	13,94	54,64	57,1
„ 48 „	51,28	9,82	38,90	102,5
„ 72 „	60,03	7,94	32,03	109,1
„ 96 „	62,05	7,45	30,50	96,9

Die zweite Portion Zymin.

20. Versuch.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin. Verschlossen am 30. November um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	32,64	13,69	53,67	60,4
„ 48 „	31,55	14,03	54,42	78,8
„ 72 „	25,80	15,24	58,96	64,5
„ 96 „	13,64	17,56	68,80	19,7

Die zweite Portion Zymin. Nach jeder Probe wurde im Laufe 1 Stunde Luft hindurchgesogen.

VIII. Fruktose.

21. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 9,00 g Fruktose.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin von der 2. Portion. Verschlossen am 30. November um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	33,88	13,46	52,66	66,4
„ 48 „	27,77	14,84	57,39	73,0
„ 72 „	—	—	—	—
„ 96 „	10,23	18,38	71,39	18,6

Nach jeder Probe wurde im Laufe 1 Stunde Luft durchgesogen.

IX. Saccharose.

22. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 17,10 g Saccharose.

Rollkultur: 2 ccm Lösung + 16 Proz. G. + 0,215 g Zymin (2. Portion Zymin). Verschlossen am 25. Oktober um 4½ Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	9,24	18,34	72,42	10,8
„ 24 „	40,01	12,10	47,89	66,7
„ 48 „	52,15	9,38	38,47	63,6
„ 72 „	58,12	7,98	33,90	57,5

Nach 72 Stunden begann die Verflüssigung der Gelatine.

23. Versuch.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin (2. Portion). Verschlossen am 30. November um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	35,48	13,07	51,25	68,1
„ 48 „	33,63	13,57	52,80	78,3
„ 72 „	28,21	14,72	57,07	68,7
„ 96 „	23,75	15,54	60,71	42,4

Nach jeder Probe wurde im Laufe 1 Stunde Luft hindurchgesogen.

X. Maltose.

24. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 17,10 g Maltose.
Rollkultur: 2 ccm Lösung + 16 Proz. Gelatine + 0,215 g Zymin (2. Portion). Verschlossen am 25. Oktober um 12½ Uhr mittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 3 Stunden	9,46	18,49	72,05	15,3
„ 24 „	41,27	11,94	46,79	87,8

Weitere Proben wurden nicht genommen. Nach 48 Stunden Verflüssigung der Gelatine.

25. Versuch.

Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin (2. Portion). Verschlossen am 30. November um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	31,32	14,01	54,67	63,9
„ 48 „	30,91	14,14	54,85	75,4
„ 72 „	26,62	15,06	58,32	65,0
„ 96 „	19,57	16,31	64,12	28,4

Nach jeder Probe wurde im Laufe 1 Stunde Luft durchgesogen.

XI. Raffinose.

26. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 29,70 g Raffinose.
Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin (2. Portion). Verschlossen am 30. November um 4 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	31,76	13,74	54,50	44,7
„ 48 „	25,51	15,07	58,42	63,1
„ 72 „	26,33	15,06	58,61	54,8
„ 96 „	21,88	15,97	62,15	42,9

Nach jeder Probe wurde 1 Stunde lang Luft hindurchgesogen.

27. Versuch.

Auf 100 ccm Wasser 9,9 g Raffinose.
Kolben: 10 ccm Lösung + 1 g Zymin (2. Portion). Verschlossen am 6. Dezember um 3 Uhr nachmittags.

	CO_2	O_2	N_2	$\frac{CO_2}{O_2}$
Nach 24 Stunden	29,93	14,17	55,90	46,0
„ 48 „	26,73	15,03	58,25	63,6

Nach jeder Probe wurde 1 Stunde lang Luft durchgesogen.

Wenn man die auf verschiedenen Zuckerarten erhaltenen Versuchsresultate zusammenstellt, so macht sich eine recht charakteristische Uebereinstimmung bemerkbar.

Betrachten wir hierzu eine Reihe von Versuchen in Kolben mit Hindurchsaugen der Luft, welche zu ein und derselben Zeit angestellt wurden, und vergleichen wir die Mengen der ausgeschiedenen Kohlensäure in Prozenten und ebenso die Koeffizienten als das Ergebnis des ganzen Prozesses.

Die so berechneten Resultate drücken sich in folgenden Ziffern aus:

	Glukose	Fruktose	Maltose	Saccharose	Raffinose $^1/_2$ norm.	Raffinose $^1/_6$ norm.
Nach 24 Stunden						
$+CO_2$	32,64	33,88	31,32	35,48	31,76	29,93
$-O_2$	0,54	0,51	0,49	0,52	0,71	0,65
$\frac{CO_2}{O_2}$	60,4	66,4	63,9	68,1	44,7	46,0
Nach 48 Stunden						
$+CO_2$	31,55	27,77	30,91	33,63	26,51	26,72
$-O_2$	0,40	0,38	0,41	0,43	0,42	0,42
$\frac{CO_2}{O_2}$	78,8	73,0	75,4	78,3	63,1	63,6
Nach 72 Stunden						
$+CO_2$	25,80	—	26,62	28,21	26,33	—
$-O_2$	0,40	—	0,41	0,41	0,48	—
$\frac{CO_2}{O_2}$	64,5	—	65,0	68,7	54,8	—
Nach 96 Stunden						
$+CO_2$	13,64	10,23	19,57	23,75	21,88	—
$-O_2$	0,69	0,55	0,69	0,56	0,51	—
$\frac{CO_2}{O_2}$	19,7	18,6	28,4	42,4	42,9	—

Die eben aufgezählten Versuche offenbaren eine deutliche Sauerstoffaufnahme, welche in vollem Umfange der Wirksamkeit der Oxydase von Bertrand zugeschrieben werden muß. Bei Buchner[1]) finden wir diesbezüglich bloß die Angabe, daß an der Luft stehender Preßsaft sich allmählich braun färbe, was seiner Meinung nach vielleicht auf die Anwesenheit von Oxydasen hinweist.

In den Untersuchungen von Iwanovsky[2]) an lebender Hefe, wo die vollste Aëration eine intensive Vermehrung der Hefezellen bewirkte, wurden die Gärungskoeffizienten = 10 gefunden, während in den eben angeführten Versuchsresultaten die Koeffizienten bis zu 75 ansteigen wegen der verhältnismäßig schwachen Sauerstoffaufnahme.

Die Gärungskoeffizienten dieser Versuchsreihe, graphisch dargestellt, geben folgendes Bild (Fig. 3).

Aus dieser Zusammenstellung ist das vollkommene Zusammenfallen aller Koeffizienten, unabhängig davon, ob wir es mit Glukose, Fruktose, Maltose oder Saccharose zu tun haben, ersichtlich. Erst im letzten Stadium, d. h. nach 72—96 Stunden, läßt sich eine Abweichung in Abhängigkeit davon bemerken; dieselbe erklärt sich dadurch, daß sich hier bereits Mangel an Gärmaterial eingestellt hat. Nach Beendigung der Versuche ergaben die Kolben mit Maltose und Saccharose auf eine Probe mit Fehlingscher Lösung hin ein positives Resultat, diejenigen mit Glukose und Fruktose dagegen ein negatives.

1) Zymasegärung, Gehalt an Enzymen. p. 79.
2) Iwanovsky, Untersuchungen über Alkoholgärung. 1894.

Aus den Kontrollversuchen ergab sich, daß die Kolben mit Gluktose und Fruktose nach 48 Stunden noch stark positive Resultate zeigen; nach 72 Stunden sind nur schwache Andeutungen auf die Anwesenheit von Zucker vorhanden. Dies erklärt sich möglicherweise dadurch, daß im gegebenen Fall, wie Buchner[1] meint, bei dem Gärungsprozeß Stoffe ausgearbeitet werden, welche die Bestimmung des Zuckers verhindern, indem sie die Kupferoxydulverbindungen in Lösung halten.

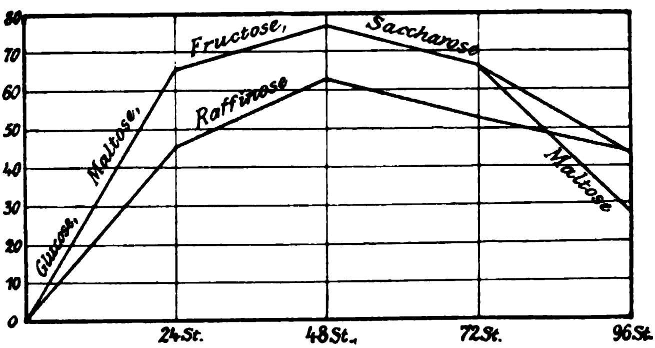


Fig. 3.

Bei dem Vergleich der Versuche auf Wasser, auf den Alkoholen, auf Laktose und auf 1-proz. Chininlösung offenbart sich, daß wir es hier fast ausschließlich mit einem Selbstgärungsprozeß zu tun haben.

(Siehe Tabelle p. 216.)

Wenn wir uns jetzt zur Literatur wenden, finden wir sehr wertvolle Hinweise. So geht nach der Meinung Buchners der Selbstgärungsprozeß zweifellos auf Kosten des in den Hefezellen vorhandenen Glykogens vor sich. Emil Laurent[2]) gibt an, daß 30 Proz. der Trockensubstanz der Hefe aus Glykogen besteht; die Menge desselben ändert sich unter dem Einfluß verschiedener Bedingungen und verschwindet gänzlich beim Selbstgärungsprozeß lebender Hefe. Außerdem kamen Errera, M. Cremer, Braun und andere bei ihren Arbeiten mit Hefe zu demselben Schlusse über die Anwesenheit von Glykogen.

Da die Dauerhefe oder das Zymin dieselbe Hefe darstellen, welche auf einem bestimmten Entwickelungsstadium durch Aceton getötet wurde, so haben wir alle Gründe, das Vorhandensein von Glykogen in ihnen auzunehmen und die Selbstgärung durch diesen Umstand zu erklären.

1) Buchner, E., Zymasegärung.
2) Annales de la Soc. Belge de Microscopie. 1890.

	Versuch No. 4 Wasser	Versuch No. 12 Glycerin	Versuch No. 15 Laktose	Versuch No. 13 Alkohol	Versuch No. 17 Mannit	Versuch No. 14 1 Proz. Chinin
Nach 24 Stunden						
$+CO_2$	7,92	7,83	7,21	7,67	7,44	3,85
$-O_2$	1,35	1,34	1,5	1,75	1,25	1,75
$\frac{CO_2}{O_2}$	5,9	5,8	6,8	4,4	5,9	2,2
Nach 48 Stunden						
$+CO_2$	8,71	8,62	7,88	8,06	8,07	5,21
$-O_2$	1,46	1,71	1,54	1,79	1,38	2,59
$\frac{CO_2}{O_2}$	5,9	5,0	5,1	4,5	5,8	2,0
Nach 72 Stunden						
$+CO_2$	—	8,92	8,12	—	8,10	5,61
$-O_2$	—	1,77	1,87	—	1,43	2,95
$\frac{CO_2}{O_2}$	—	5,0	4,3	—	5,7	1,9
Nach 96 Stunden						
$+CO_2$	9,35	8,98	—	—	—	—
$-O_2$	1,47	1,82	—	—	—	—
$\frac{CO_2}{O_2}$	6,4	4,9	—	—	—	—

Indem wir die Resultate aller oben beschriebenen Versuche zusammenfassen, gelangen wir zu folgenden Schlüssen:

1) Das Zymin gibt auf sterilisiertem Wasser Koeffizienten $\frac{CO_2}{O_2}$, die höher als 1 sind. Diese sogenannte Selbstgärung muß man bei der Untersuchung der Wirkungsweise des Zymins im Auge behalten.

2) Auf Glycerin, Mannit, Laktose und Alkohol erhält man dasselbe Bild der Selbstgärung.

3) 1 Proz. salzsaures Chinin bewirkt eine Abnahme der Kohlensäureausscheidung und ein damit verbundenes Fallen des Koeffizienten.

4) Glukose, Fruktose, Maltose und Saccharose geben hohe und untereinander ähnliche Koeffizienten, welche nach 48 Stunden zu fallen beginnen.

5) Raffinose gibt niedrigere Koeffizienten als die anderen Zuckerarten.

6) Die Versuche mit Raffinose bei 2 verschiedenen Konzentrationen lassen annehmen, daß die Konzentration des Zuckers keinen Einfluß auf die Koeffizienten ausübt.

7) Der Sauerstoffverbrauch läßt auf das Vorhandensein eines oxydierenden Ferments schließen.

Bakteriologische Untersuchung über Bacillus Oleae (Arc.).

Vorläufige Mitteilung.

Von **Ruggero Schiff,** Pisa.

Wie bekannt, ist der Bacillus Oleae der Krankheitserreger der Tuberkulose bei Olea europaea. Derselbe findet sich in Reinkultur in gewissen gelatinösen, durchscheinenden, kleinen Massen, welchen man in den von ihm hervorgerufenen Tuberkeln begegnet.

Der Bacillus Oleae ist ein polymorpher Mikroorganimus. In den Tuberkeln erscheint er in Form eines kurzen, an den Enden abgerundeten Bakteriums. Sowohl in Agar- als auch in Fucus-crispuskultur hat er ungefähr gleiches Aussehen. Die jungen Kulturen bestehen fast ausschließlich aus Individuen, an deren Enden das Protoplasma kondensiert ist und in deren Mitte sich ein kleines Vakuum befindet. Nach 4—5 Tagen verschwinden diese Formen. In Fleischbrühe nimmt er längliche Bacillarformen an, welche in Ketten zahlreicher Individuen angeordnet sind. Oft begegnet man in der Brühe verworrenen Knäulen dieser Ketten, welche an ähnliche Gebilde des B. anthracis erinnern. Die Dimensionen des B. Oleae wechseln zwischen 1,5—4,5 μ Länge und 0,8 μ Breite. Derselbe hat zahlreiche Geißeln, welche ihrer Zerbrechlichkeit wegen sehr schwer zu sehen sind. Er zeitigt rasch Sporen. In Fleischbrühe (besonders wenn die Kultur bei einer 37° übersteigenden Temperatur gemacht worden war) fängt man schon nach 20 Stunden an, sie im Innern der Bacillen zu unterscheiden; bald nehmen sie den größten Teil des Bacilluskörpers ein und am 3. Tage sind sie völlig frei. Die altèn Kulturen bestehen ausschließlich aus Sporen. Letztere sind oval, 1,5 μ lang und 1 μ breit und haben eine außergewöhnliche Widerstandsfähigkeit gegen Hitze. Sie behalten ihre Lebensfähigkeit nach 15 Minuten langem Kochen bei 102°, Siedepunkt meiner Fleischbrühe. In den Bacillen der Tuberkeln habe ich niemals Sporen aufgefunden. In frischem Zustande zeigen die Bacillen lebhafte fortschreitende und wurmartige Bewegungen, während die Sporen nur eine andauernde Brownsche Bewegung haben. Alle gewöhnlich angewandten Kulturmittel sind diesem Bacillus genehm; nach 18 Stunden trübt er die Fleischbrühe; nach 12 Stunden hat er auf Agar und auf Fucus eine sichtbare Haut gebildet, er koaguliert die Milch und löst nach 4—5 Tagen das Koagulum wieder auf.

Ich habe in sterilisiertem, albumin- und zuckerfreiem Urin Kulturen gemacht und dieselben nach 20 Tagen durch ein Kitasato-Filter filtriert. Im Filtrate habe ich Albumin gefunden, während die mit destilliertem Wasser gekochten, auf dem Filter zurückgebliebenen Bacilluskörper eine Flüssigkeit gaben, welche mit Fehlingscher Lösung starke Reduktion zeigte.

Der B. Oleae enthält demnach in seinem Protoplasma eine in heißem Wasser lösliche reduzierende Substanz, während er in albuminfreien Kulturmitteln eine eiweißartige Substanz hervorbringt. Letztere enthält eine Amylase. Einige Tropfen des filtrierten Urins erzeugen in Stärkeemulsion Zucker. Säet man in Fleischbrühe mit Stärke den B., so beobachtet man nach 3 Tagen die Zuckerreaktion. Bringt man Rindefragmente, welche der Umgebung eines Tuberkels entnommen sind, in eine Fleischbrühekultur, so beobachtet man nach 24 Stunden eine präzis abgegrenzte Schichtenbildung; die obere ist klar und durchsichtig, die untere hingegen trübe. Die Kultur ist somit agglutiniert.

Diese Wirkungsweise fehlt im Holz und im Mark und ist allein der Rinde eigen. Natürlich fehlt sie in allen Teilen der gesunden Pflanze. Wendet man anstatt der Epidermisfragmente deren wässerige Infusion an, so beobachtet man dieselben Erscheinungen in noch höherem Grade. Diese Infusion hat eine kräftige Reduktionswirkung auf Fehlingsche Lösung, während solche von gesunden Pflanzenteilen nicht reduziert. Bisweilen jedoch beobachtet man eine ganz geringe Reduktion, welche vielleicht kleinen Tanninspuren zuzuschreiben ist.

Der Zucker der kranken Pflanze ist durch die Wirkung der Amylase des B. aus der Stärke der Pflanze gebildet.

In der kranken Pflanze findet man neben den Agglutininen noch wahre bakterientötende Substanzen. Später werde ich die Zählung der Kolonieen mitteilen, welche sich bei Gegenwart oder in Abwesenheit der bakterientötenden Substanz bilden.

Diese Beobachtungen beweisen, daß ähnlich, wie man das schon für Tiere kannte, auch in den Pflanzen, in den an einer Infektionskrankheit leidenden Individuen sich Substanzen bilden, welche für ihre Krankheitserreger ein spezifisches Gift sind und welche zur Verteidigung des angegriffenen Organismus bestimmt sind.

Pisa, März 1904.

Betrachtungen über die Verteilung der Uredineen auf ihren Nährpflanzen.

Von Oberlehrer Dr. **P. Dietel** in Glauchau.

Die Veröffentlichung der folgenden Zeilen ist veranlaßt durch das Erscheinen des hochinteressanten Buches von H. Klebahn über die wirtswechselnden Rostpilze. Wenn wir uns mit unseren Betrachtungen noch etwas weiter auf das unsichere Gebiet der Spekulation wagen, als dies bereits Klebahn getan hat, so geschieht dies deshalb, weil wir der Ueberzeugung sind, daß es auch auf diesem Wege möglich sei, der Ermittelung der zum Teil noch unklaren Verwandtschaftsbeziehungen unter den Uredineen die Wege zu ebnen. Wir sind uns dabei wohl bewußt, daß manche von den hier gezogenen Schlüssen sich später als irrig erweisen

dürften; hoffentlich wird dieses Urteil nicht auch vom Grundgedanken der ganzen Untersuchung gelten.

Man darf wohl annehmen, daß auf die Entwickelung einer Pilzfamilie mit so ausgeprägtem und hochentwickeltem Parasitismus, wie die Uredineen es sind, die Entwickelung ihrer Nährpflanzen nicht ohne Einfluß gewesen sein werde, wenn man auch nicht wird erwarten dürfen, daß beide in einem gewissen Parallelismus zu einander verlaufen seien. Klebahn hat nun für die wirtswechselnden Arten die Frage aufgeworfen, „ob irgendwelche Gesetzmäßigkeiten oder wenigstens Regelmäßigkeiten in dem Zusammentreffen der Aecidien- und Teleutosporengenerationen, sowie namentlich in der Auswahl der Wirtspflanzen zu erkennen sind", und ist zu dem Ergebnis gelangt, „daß ein allgemeines Gesetz, welches den Wirtswechsel beherrscht, nach den bisher aufgeklärten Fällen nicht abgeleitet werden kann und auch wohl nicht vorhanden ist" (p. 113). Falls man diese Gesetzmäßigkeit darin sucht, daß man irgend eine Beziehung der beiderlei Generationen zur Stellung ihrer Nährpflanzen im natürlichen System erwartet, so ist allerdings der Erfolg dieser Bemühungen ein negativer. Wenn also irgendwelche Regel in der Auswahl der Wirte bei der Entstehung wirtswechselnder Arten und überhaupt bei der Verteilung der Rostpilze auf ihre Nährpflanzen geherrscht hat und vielleicht noch herrscht, so muß sich diese in einer anderen Beziehung offenbaren, als in der systematischen Stellung der Nährpflanzen allein.

Unseres Erachtens ist nun allerdings eine solche Regel nachweisbar, insofern nämlich als die Fortentwickelung der Uredineen und ihr Uebergang auf neue Nährpflanzen aus anderen Familien immer im Sinne der fortschreitenden Entwickelung der Gefäßpflanzen erfolgt zu sein scheint. Mit anderen Worten: wenn bei irgend einem Rostpilze die Tendenz sich geltend machte, seine Entwickelung oder einen Teil derselben auf eine andere, dem bisherigen Wirte nicht näher verwandte Nährpflanze zu verlegen, so wurden nie Pflanzen ergriffen von höherem geologischen Alter als es die bisherige Nährpflanze hatte, sondern immer nur solche, die einer jüngeren oder der gleichen geologischen Periode entstammen.

Der Uebergang auf eine neue Nährpflanze setzt auf seiten des Pilzes das Vorhandensein einer wenigstens zeitweiligen Tendenz zu plurivorer Lebensweise voraus. Um sich das Zustandekommen der letzteren zu erklären, wird man, wie Klebahn gezeigt hat, nicht umhin können, „aus dem inneren Wesen des Pilzes hervorgehende Veränderungen anzunehmen, die plötzlich auftreten können und jedenfalls durch die Selektion nicht beeinflußt werden" (p. 164). Dazu, daß jene Tendenz zur Wirkung gelangen kann, scheinen nun aber auch von seiten der Nährpflanze gewisse Eigenschaften erforderlich zu sein. Welcher Art die letzteren sind, läßt sich schwer sagen. Daß sie ausschließlich auf der chemischen Konstitution des Wirtsprotoplasmas beruhen sollten, ist nicht wahrscheinlich. Wir sehen z. B., daß auf Gentiana asclepiadea eine Art der Gattung Cronartium lebt, die mit Cro-

nartium asclepiadeum aufs engste verwandt, entweder von dieser oder mit ihr von einer gemeinsamen Stammart abstammt. Es muß also Gentiana asclepiadea zu irgend einer Zeit für eine Infektion durch Cronartium empfänglich gewesen sein. Aber Cronartium asclepiadeum vermag nach Versuchen von Klebahn diese Nährpflanze nicht zu infizieren, obwohl diese Pilzart noch gegenwärtig in so ausgeprägter Weise plurivor ist, daß bereits Nährpflanzen aus 4 in der Verwandtschaft weit entfernt stehenden Familien (Asclepiadeen, Ranunculaceen, Scrophulariaceen und Verbenaceen) für sie nachgewiesen sind, darunter 2, mit denen sie sozusagen erst unter den Händen des Menschen in Berührung getreten ist. Die Unempfänglichkeit der Gentiana gegenüber Cronartium asclepiadeum kann nun ihren Grund ebensowohl in der Natur des Pilzes als auch in den gegenwärtigen Eigenschaften der Nährpflanze haben. Es will uns fast scheinen, als sei das letztere der Fall. Es würde indes voreilig sein, an ein solches einzelnes Beispiel bestimmte Schlußfolgerungen zu knüpfen.

Wenn wir indessen die Gesamtheit der Rostpitze ins Auge fassen, so ist doch eine große Ungleichmäßigkeit in ihrer Verteilung über die verschiedenen Familien der Nährpflanzen bemerkbar. Man kann die Uredineen anscheinend in 2 Familien einteilen: die Melampsoraceen und die Pucciniaceen. Von der Begründung dieser Einteilung können wir hier umsomehr absehen, als diejenigen Gattungen, deren Zugehörigkeit zu einer dieser Familien zweifelhaft sein könnte, für unsere Betrachtung kaum in Frage kommen. Wir bemerken nun, daß die Pucciniaceen nur auf angiospermen Nährpflanzen vorkommen, unter Ausschluß der ältesten Familien derselben, soweit sie nämlich den Reihen der Salicales und Fagales angehören. (Von der Gattung Gymnosporangium, deren Teleutosporen auf Cupressaceen leben, während die Aecidien auf Pomaceen gebildet werden, wird unten besonders die Rede sein.) Andererseits finden wir, daß alle Melampsoraceengattungen, soweit ihre Entwickelung ermittelt ist, zu den Abietineen insofern in Beziehung stehen, als sie auf diesen ihre Aecidien zur Ausbildung bringen. Nur für die Gattung Melampsora kommen daneben noch andere Nährpflanzen in Betracht.

Es müssen nun die beiden Familien der Uredineen entweder von Anfang an nebeneinander sich entwickelt haben oder die eine trat erst später neben der anderen auf. Nach den morphologischen Verhältnissen allein zu urteilen, ist keine von beiden Möglichkeiten ausgeschlossen; es liegt aber wenigstens eine Beobachtung vor, die darauf hindeutet, daß auch von diesem Standpunkte aus den Pucciniaceen ein erheblich geringeres Alter zuzuschreiben ist als den Melampsoraceen. Es ist nämlich aus Colorado auf Salix eine im übrigen typische Melampsora (M. paradoxa) bekannt geworden, bei welcher in den Uredolagern außer den Uredosporen und den für Melampsora charakteristischen Paraphysen noch gestielte und nicht zu Krusten vereinigte Sporen mit Teleutosporencharakter vorkommen, die, an Gestalt sehr verschieden, voll-

kommen den Teleutosporen verschiedener Pucciniaceengattungen (Uromyces, Puccinia, Diorchidium, Phragmidium) gleichen. Man könnte sich vorstellen, daß diese neue Sporenform auf anderen Nährpflanzen selbständig geworden sei und den Ausgangspunkt für die Entwickelung der Pucciniaceen gebildet habe. Hiernach erscheinen die Pucciniaceen als die jüngere von beiden Familien. Wir würden dieser Beobachtung und den sich daran anschließenden Erwägungen kein besonderes Gewicht beilegen, zumal da die Keimungsweise dieser vermeintlichen losen Teleutosporen noch nicht beobachtet ist, wenn nicht das Auftreten dieser Sporenform beziehentlich ihrer Nährpflanze in geradezu verblüffender Weise zusammenfiele mit derjenigen Epoche der Erdentwickelung, von welcher ab erst die Pflanzenfamilien auftraten, die den Pucciniaceen als Wirte dienen.

Die Pucciniaceen müssen zum Teil, insbesondere die Gattungen Uromyces und Puccinia, in sehr ausgiebigem Maße plurivor gewesen sein, da sie sich über fast alle größeren Familien der Angiospermen mit Ausnahme der Amentaceen ausgebreitet haben. Man hat es wohl manchmal als eine auffällige Erscheinung bezeichnet, daß manche Gattungen der Puccinaceen hinsichtlich ihres Vorkommens auf Pflanzen aus einer einzigen oder aus nur wenigen Familien beschränkt sind (Phragmidium, Ravenelia, Uropyxis, Gymnosporangium u. a.). Wir möchten aber die Betrachtungsweise umkehren und die Frage stellen, warum wohl von manchen Familien die Pucciniaceen völlig ausgeschlossen sind. Wir können es nicht als einen Zufall ansehen, daß keine einzige Art der Pucciniaceen auf Filicineen, Abietineen, Amentaceen übergegangen ist. Man könnte daran denken, daß die Organisation jener älteren Pflanzen, insbesondere der Abietineen und Filicineen zu weit von denjenigen der Mono- und Dikotyledonen verschieden sei, um einen solchen Uebergang zu ermöglichen. Wir sehen aber, daß eine große Anzahl von Melampsoraceen einen Teil ihrer Entwickelung auf einer Konifere, den anderen auf einer angiospermen Nährpflanze zurücklegen, und können daher diesen Erklärungsversuch nicht für zutreffend halten. Es muß also wohl ein anderer Umstand dem Uebergang der Pucciniaceen auf jene älteren Pflanzen hinderlich gewesen sein. Wir möchten daher vermuten, daß eine Pflanzenart oder -Gattung, während sie im Entstehen begriffen ist, und vielleicht auch noch einige Zeit nach ihrer Entstehung einem Angriff dieser Parasiten einen geringeren Widerstand entgegensetzt als später, wenn ihre Organisation in einen Zustand der Stabilität übergegangen ist. Für den Uebergang eines Rostpilzes auf eine neue Nährpflanze kommen also anscheinend drei verschiedene Faktoren in Betracht: 1) eine Tendenz des Pilzes, den Kreis seiner Wirtspflanzen zu erweitern resp. verändern, 2) eine durch die Beschaffenheit der beiderlei Protoplasmen, nämlich desjenigen des Wirtes und des Parasiten, bedingte Disposition der Nährpflanze zur Aufnahme des Parasiten, 3) das geologische Alter der Nährpflanze. Nur die ersten beiden erscheinen als die selbstverständliche Voraussetzung dieses Vorganges.

Wir wollen nun versuchen, uns ein Bild davon zu machen, wie die Besiedelung der höheren Pflanzen durch Rostpilze im Verlaufe der geologischen Perioden vor sich gegangen sein dürfte. Dieses Bild wird insofern ein lückenhaftes sein müssen, als von manchen Gattungen, besonders solchen der Melampsoraceen, der vollständige Generationswechsel nicht einmal für eine einzelne Art ermittelt ist, und weil zweitens die Ergebnisse der Pflanzenpaläontologie für unseren Zweck teilweise zu unvollständige sind. Gerade über diejenigen Gattungen, die wahrscheinlich das höchste Alter besitzen, sind unsere Kenntnisse noch sehr unzureichend.

Man wird nach den obigen Darlegungen erwarten dürfen, daß die ältesten Uredineenformen auf den im natürlichen System am tiefsten stehenden Pflanzen, soweit sie als Nährpflanzen von Uredineen in Betracht kommen, zu finden sind. Dies sind die Farnkräuter. Auf Farnen kommen Uredo- und Teleutosporen vor von einer ziemlichen Anzahl von Arten, die den Gattungen Uredinopsis, Hyalopsora und Melampsorella oder Thekopsora zugewiesen werden. Was die zu diesen beiden letzteren Gattungen gestellten Formen betrifft, so weichen sie von den typischen Arten der beiden Gattungen Melampsorella und Thekopsora etwas ab, so daß sie vielleicht besser zu einer besonderen Gattung vereinigt werden, wie dies bereits P. Magnus ausgesprochen hat. Mit Hyalopsora sind sie nahe verwandt und entweder aus dieser Gattung (resp. umgekehrt) oder mit ihr zusammen aus Uredinopsis beziehentlich aus einer diesen Gattungen gemeinsamen Urform genetisch abzuleiten. Es sprechen nun in der Tat einige Umstände dafür, daß Uredinopsis eine der ältesten Uredineengattungen, von den jetzt lebenden Gattungen vielleicht die älteste, darstellen dürfte. Als wichtigster Umstand dieser Art ist zu nennen das zerstreute Auftreten der Teleutosporen an beliebigen Stellen im Mesophyll, also das Fehlen eigentlicher Sporenlager. Auch die abweichende und höchst eigenartige Gestalt der dünnwandigen Uredosporen bei einigen Arten, sowie das Vorhandensein zweier verschiedenen Uredoformen, das die Gattung Uredinopsis mit Hyalopsora teilt, kann man wohl in diesem Sinne auffassen. Endlich ist das Vorkommen in nur wenigen Arten an sehr entfernt liegenden Punkten der Erde (3 Arten in Europa, 2 in Californien, wovon eine auch im Kaukasus, je 1 Art in der Mandschurei und Japan) eine Erscheinung, die besonders bei Gattungen von hohem Alter häufig vorkommt. Nur von einer dieser Arten, nämlich von der in Japan gefundenen Uredinopsis Corchoropsidis Diet. ist die Nährpflanze kein Farnkraut, sondern eine Tiliacee. Es ist nun leider für alle diese auf Filicineen lebenden Uredineen die Entwickelung nicht genauer bekannt, insbesondere ist unbekannt, ob zu ihnen Aecidium-Formen gehören, und auf welchen Nährpflanzen diese etwa zu finden sind. Wahrscheinlich haben alle diese Arten Aecidien. Es ist ferner auch wahrscheinlich, daß diese Aecidien auf Abietineen, speziell auf Abies leben, da die nächstverwandten Gattungen Pucciniastrum, Thekopsora, Calyptospora, Melampsorella

Aecidien auf Abies und Picea entwickeln und auch das floristische Vorkommen dieser Pilze mit dieser Annahme im Einklang steht. So lange indessen nichts Genaueres hierüber bekannt ist, wird es angebracht sein, von einer weiteren Diskussion dieser Verhältnisse abzusehen.

Die soeben genannten Gattungen Pucciniastrum, Thekopsora, Calyptospora und Melampsorella können hier gemeinschaftlich behandelt werden, da sie sich auch morphologisch als sehr nahe untereinander verwandt erweisen — so nahe, daß man im Zweifel sein kann, ob nicht eine teilweise Zusammenlegung derselben am Platze sei. Es ist indes hier nicht der Ort, auf diese Frage einzugehen. Morphologisch entfernt sich wohl Melampsorella, soweit dabei die nicht auf Farnen lebenden Arten in Betracht kommen, durch die Gestalt der Teleutosporen am weitesten von den anderen Gattungen, aber ihr Anschluß an diese letzteren ist, wie Magnus gezeigt hat, auch in dieser Sporenform deutlich erkennbar und durch die Beschaffenheit der Aecidien- und Uredogeneration geradezu unabweisbar. In der Aecidium-Form hat sich Thekopsora Padi (ob auch andere Arten von Thekopsora?) in eigenartiger Weise entwickelt, aber hier ist der Anschluß an jene anderen Gattungen wieder durch die beiden anderen Generationen deutlich ausgesprochen. Als Nährpflanzen dienen den Arten der hier behandelten Gattungen sehr verschiedene Gewächse, sämtlich Dikotylen. Sie gehören teilweise in Gattungen von hohem Alter (Castanea, Corylus), teilweise stammen sie sicher aber auch aus späterer Zeit. Zahlreich sind unter ihnen solche Pflanzen vertreten, die entweder typische Bewohner des Nadelwaldes sind oder wenigstens häufig in Nadelwäldern oder deren Nähe vorkommen (Vaccinium, Pirola, Epilobium angustifolium, Galium silvaticum u. a.). Es sei auch darauf hingewiesen, daß aus Ländern, denen die Nadelhölzer fehlen, auch keine diesen Gattungen angehörigen Rostpilze bekannt sind. Dies alles spricht dafür, daß diese Verteilung der verschiedenen Generationen in den Gattungen Pucciniastrum, Calyptospora, Thekopsora und Melampsorella entsprechend der obigen Regel von der Fortentwickelung der Uredineen im Sinne der fortschreitenden Entwickelung der Gefäßpflanzen von den Tannen und Fichten aus und nicht umgekehrt erfolgt sei. — Die auf den älteren Nährpflanzen lebenden Arten einer Gattung müßten also nach dieser Auffassung die älteren sein. Zur Bestätigung kann vielleicht folgende Beobachtung angeführt werden. Bei den typischen Arten von Pucciniastrum, wie z. B. Pucc. pustulatum (Pers.) auf Epilobium angustifolium, sind die Teleutosporen überwiegend 4-zellig, dunkel gefärbt und zu krustenförmigen Lagern dicht zusammengedrängt. Pucciniastrum Coryli Kom. hat dagegen blaßgelbliche, meist 2- oder 1-zellige Sporen, die zu unregelmäßigen Nestern sehr locker gruppiert sind. In allen diesen Eigentümlichkeiten tritt eine enge Beziehung dieses Pilzes zu Uredinopsis klar zu Tage, die für die anderen Arten der Gattung Pucci-

niastrum weit weniger deutlich ist; er erweist sich dadurch als eine Uebergangsform von der älteren Gattung Uredinopsis zu den typischen Arten der jüngeren Gattung Pucciniastrum.

Es ist nun keineswegs erforderlich, anzunehmen, daß zu allen diesen Gattungen mit ihren offenbar durchweg heterözischen Arten jemals entsprechende autözische Formen auf Koniferen gelebt haben. Dies ist sogar sehr unwahrscheinlich, da gegenwärtig nicht eine einzige Uredinee mehrere Sporengenerationen auf Abietineen entwickelt. Man wird sich die Entstehung dieser Gattungen vielmehr folgendermaßen vorstellen dürfen. Nehmen wir an, es habe zunächst eine bereits wirtswechselnde Art mit Aecidien auf Abies und mit Teleutosporen vom Typus einer der genannten Gattungen, etwa eine Melampsorella, auf Farnkräutern bestanden. Diese habe dann mit dem Auftreten geeigneter neuer Pflanzen (Dikotyledonen) den Kreis ihrer Nährpflanzen erweitert und die Ausbildung ihrer Uredo- und Teleutosporen auf diese anderen Pflanzen verlegt, daneben aber die alten Nährpflanzen zunächst beibehalten. Infolge allmählich fortschreitender Spezialisierung dürfte dann leicht eine Trennung der anfangs einheitlichen Art in mehrere, zunächst vielleicht nur biologische Species eingetreten sein. Der Uebergang auf andere Nährpflanzen bedeutete sicher für den Pilz eine teilweise Aenderung seiner Lebensbedingungen, es werden dabei sicherlich Hand in Hand mit dieser Veränderung auch morphologische Unterschiede sich mehr und mehr herausgebildet und schließlich zu einer weitgehenden Verschiedenheit der Arten geführt haben. — Ebenso hat sich wahrscheinlich die Gattung Stichopsora direkt aus den heterözischen Arten von Coleosporium herausgebildet, so daß eine autözische Stichopsora vermutlich nie existiert hat.

Wir haben hier nur die Umquartierung der Teleutosporenform auf neue Wirtspflanzen im Auge gehabt. Daneben dürfte auch ein Uebergang der Aecidiengeneration auf andere Nährpflanzen, zunächst auf jüngere Koniferenarten, erfolgt sein. Dieses könnte im Gegensatz zu dem anderen, sprungweisen Uebergang allmählich mit der Herausbildung der neuen Nährspecies vor sich gegangen sein. Auf diese Weise könnte etwa Aecidium Laricis Kleb. aus einem älteren Koniferenaecidium entstanden sein, so daß hiermit der Anschluß der Gattung Melampsoridium an die vorher behandelten Genera gegeben wäre. Diese Auffassung ist auch durch die Beschaffenheit der beiden anderen Sporenformen gerechtfertigt. Die Uredolager sind von einer Pseudoperidie von gleichem Bau wie bei Pucciniastrum umschlossen, nur sind die Zellen, die die Mündung dieser Peridie umgeben, zu langen, spitzen Zähnen verlängert. Die Teleutosporen sind zwar meist 1-zellig, es kommen aber längsgeteilte Sporen nicht selten vor. Ich habe das Vorhandensein derselben bei Melampsoridium betulinum (Pers.) und Mel. Alni (Thüm.) feststellen können; von Melampsoridium Carpini lag mir kein Teleutosporenmaterial zur Untersuchung vor. Auch für diese Gattung ist es

nicht erforderlich, das ursprüngliche Vorhandensein einer autözischen Art vorauszusetzen.

Da es nicht unsere Aufgabe sein kann, hier die verwandtschaftlichen Beziehungen aller Uredineengattungen zu einander klarzulegen, so gehen wir nicht auf die Frage ein, wie etwa die Gattungen Chrysomyxa, Coleosporium und Cronartium an die anderen Melampsoraceengattungen anzuschließen sind. Bezüglich der erstgenannten beiden Gattungen wird man nicht umhin können, ihren Ursprung auf Koniferen zu suchen, wie dies auch Klebahn (p. 172, 179) getan hat. Die Entstehung der heterözischen Arten ist also auch hier durch Verlegung der Teleutosporengeneration auf Wirtspflanzen höher organisierter, geologisch jüngerer Familien, fast durchweg Dikotyledonen, zu erklären.

Besonderes Interesse beansprucht aber die Gattung Cronartium, nämlich dadurch, daß eine ihrer Arten noch gegenwärtig ausgesprochen plurivor ist. Sehen wir zunächst von dieser Tatsache ab, so müßte schon das Vorkommen der Teleutosporen auf sehr verschiedenen Nährpflanzen (Quercus, Ribes, Vincetoxicum, Gentiana u. a.) und das Auftreten der zugehörigen Aecidium-Formen ausschließlich auf Pinus-Arten, sowie namentlich die große Uebereinstimmung der Aecidiensporen mit denen anderer Koniferenäcidien aus denselben Gründen wie bei Coleosporium uns zu dem Schlusse führen, daß alle diese Arten entweder von einem, wenn auch nur von vorübergehend autözischen Cronartium auf Pinus oder, was wahrscheinlicher ist, von einer bereits heterözischen Art abstammen, die sich aus einer, einer anderen Gattung angehörigen heterözischen Art heraus entwickelt haben könnte. Aus dieser Stammart, die wir uns natürlich als plurivor vorzustellen haben, ist sicher ein Teil der Arten durch Spezialisierung entstanden, insofern als die auf verschiedenen Pinus-Arten gebildeten Aecidien sich mit der Bildung der Teleutosporen auf einen engeren Kreis von Nährpflanzen, etwa nur aus einer einzigen Gattung, beschränkten (Cronartium Ribicola, Cr. quercuum). Es ist nun aber, wie die Versuche von E. Fischer und H. Klebahn gelehrt haben, dieses Stadium der Pleophagie noch nicht für alle Arten von Cronartium bendet, da Cr. asclepiadeum seine Uredo- und Teleutosporen auch jetzt noch auf sehr verschiedenen Nährpflanzen, deren bis jetzt 4 aus 4 verschiedenen Familien nachgewiesen sind, zu bilden vermag. Dies schließt nicht aus, daß nicht von dieser zu dem Rindenaecidium der gemeinen Kiefer gehörigen Art durch teilweise Spezialisierung bereits einzelne biologische Arten sich können abgesondert haben.

Während bei Cronartium asclepiadeum die Uredo-Teleutosporengeneration auf verschiedenen nicht näher verwandten Pflanzen sich zu entwickeln vermag und zum Teil erst durch das Zutun des Menschen auf dieselben übergegangen ist, insofern nämlich dieser Pilz erst durch den Menschen mit jenen Pflanzen in Berührung gekommen ist, hat umgekehrt bei Cronartium-

Ribicola die Ausbildung der Aecidienform erst neuerdings auf einer neuen Nährpflanze Platz gegriffen. Dieser Pilz ist im vorigen Jahrhundert von Rußland her bei uns eingewandert; seine Aecidien bildet er bei uns auf der Weymouthskiefer Pinus Strobus aus, während ihm in seiner Heimat Pinus Cembra als Aecidienwirt dient. Da dieses Cronartium in der Heimat der Weymouthskiefer nicht vorkommt, so ist es also erst in neuerer Zeit auf diese Nährpflanze übergegangen. Man könnte aus dieser Beobachtung vielleicht Bedenken gegen die Allgemeingültigkeit der oben als maßgebend für die Ergreifung neuer Nährpflanzen aufgestellten Regel ableiten, weil Pinus Strobus bereits im Pliocän neben Pinus Cembra vorkommt. Es kann indessen kaum befremden, daß zwei so nahe verwandte Arten einander vollständig vertreten können, und jene Regel soll auch nur sich auf diejenigen Fälle beziehen, bei denen es sich um einen Uebergang auf Nährpflanzen aus einer anderen Familie handelt.

Bei allen bisher besprochenen Gattungen ist es die Uredo-Teleutosporengeneration gewesen, deren Entwickelung auf neue Nährpflanzen überging, eine Umquartierung der Aecidiengeneration auf angiosperme Nährpflanzen ist allem Anscheine nach nicht erfolgt. Eine solche ist nun in ausgedehntem Maße eingetreten bei der Gattung Melampsora. Durch den Bau der Teleutosporen schließt sich Melampsora eng an Melampsoridium an, und die Auffassung, daß beide Gattungen eine gemeinsame Abstammung haben, erscheint auch dadurch gerechtfertigt, daß die als Caeoma ausgebildete Aecidiengeneration gewisser Melampsoren ebenso wie diejenige von Melampsoridium auf Larix lebt. Nach dieser Auffassung ist der Ursprung der Gattung Melampsora nicht in einer autözischen Art, wie etwa Mel. Amygdalinae Kleb. auf Salix amygdalina, zu suchen, sondern die Stammform müßte als heterözisch mit Caeoma-Aecidien auf Abietineen gedacht werden. Es müßten daher die zu solchen Caeoma-Formen gehörigen Arten die älteren Glieder der Gattung sein. Derartige Caeoma-Formen leben gegenwärtig auf Larix, Pinus und Abies. Von diesen zeigt das auf Abies pectinata lebende Caeoma Abietis pectinatae Reess, das nach Beobachtungen von v. Tubeuf zu einer Melampsora auf Salix Caprea gehört, sehr deutlich die sogenannte Stäbchenstruktur der Sporenmembranen, die für die Aecidien der bisher behandelten Melampsoraceengattungen charakteristisch ist. Bei Caeoma Laricis und Caeoma pinitorquum habe ich diese Struktur nur an jugendlichen, unreifen Sporen mitunter beobachtet, bei den auf anderen Nährpflanzen lebenden Caeoma-Formen verschiedener Melampsoren aber vergeblich danach gesucht. Diese Beobachtungen rechtfertigen also vollkommen die Auffassung, daß die ältesten Arten von Melampsora von einer anderen bereits heterözischen Melampsoraceengattung abstammen und selbst von Anfang an heterözisch waren. Es würde durchaus unwahrscheinlich sein, daß eine autözische Art auf Populus oder Salix den Ausgangspunkt gebildet hätte, und daß die auf Abies verlegte

Caeoma-Form die Stäbchenstruktur der Sporenmembranen sollte angenommen haben, die den auf angiospermen Nährpflanzen gebildeten Caeoma-Formen fehlt.

Die Schwierigkeiten, auf welche man bei der Annahme einer solchen autözischen Melampsora als Stammart stößt, hat bereits Klebahn (S. 182) dargelegt. Wir schließen uns seiner Darstellung an, wenn er bei der Erörterung der verschiedenen Möglichkeiten, wie die eigenartige Verteilung der Generationen erfolgt sein könnte, auf S. 183 sagt: „Endlich bliebe noch die Möglichkeit, spätere Aenderungen in den bereits vorhandenen Heterözieverhältnissen anzunehmen. Stellen wir uns z. B. ganz willkürlich Melampsora Larici-Tremulae als eine ursprüngliche Pilzform vor, so könnten daraus durch Uebersiedeln des Caeomas auf neue Wirte (Mercurialis, Chelidonium u. s. w.) die Formen M. Rostrupii, Magnusiana u. s. w., durch Uebergang der Teleutosporengeneration auf neue Wirte (Populus nigra, Salix viminalis) die Formen Mel. Larici-populina und Larici-epitea hervorgegangen sein."

Es erscheint also genügend begründet, für diese Gattung eine Verlegung der Caeoma-Entwickelung von Abietineen auf jüngere Pflanzengattungen (Evonymus, Mercurialis, Ribes, Saxifraga, Corydalis, Chelidonium, Allium, Galanthus, Orchidaceen) unter Beibehaltung der alten Caeoma-Wirte anzunehmen. Die autözischen Arten von Melampsora dürften sonach aus den heterözischen entstanden sein und zwar entweder dadurch, daß die Caeoma-Generation mit auf den bisherigen Wirt der anderen Spormenformen überging (so bei Mel. Amygdalinae Kleb.), oder dadurch, daß die Teleutosporengeneration auf die Nährpflanze des Caeomas mit übersiedelte. Auf diese Weise dürfte die autözische Mel. Saxifragarum (DC.) neben der heterözischen Mel. alpina Juel (mit Caeoma auf Saxifraga) sich gebildet haben, ferner solche Arten wie Mel. Helioscopiae u. a.

Von anderen Gattungen der Melampsoraceen wird unten noch zu sprechen sein.

Wenden wir uns nun zur Betrachtung der Pucciniaceen, so ist zunächst zu wiederholen, daß diese auf den verschiedensten Familien der Angiospermen leben, aber von allen denjenigen Gattungen ausgeschlossen sind, die den Reihen der Fagales und Salicales angehören, und ebenso auf Abietineen und Filicineen vollständig fehlen. Wir schließen daraus, daß das erste Auftreten der Pucciniaceen zeitlich später anzusetzen ist als dasjenige der ersten Dikotyledonen.

Die Verteilung der Pucciniaceengattungen auf ihre Nährpflanzen ist eine ziemlich ungleichmäßige: manche Gattungen, und zwar die meisten, sind auf Pflanzen aus einer einzigen Familie oder aus nur wenigen Familien beschränkt, andere haben auf einer sehr großen Anzahl von Wirtsfamilien sich angesiedelt. Gattungen der ersten Arten sind:

Gymnosporangium, zahlreiche Arten in der Aecidiumform auf Pomaceen mit Teleutosporen auf Cupressaceen.

Phragmidium, zahlreiche Arten auf Rosaceen;
Sphaerophragmium, 2 Arten auf Leguminosen;
Ravenelia, zahlreiche Arten auf Leguminosen, einige auf Euphorbiaceen (Phyllanthus);
Hapalophragmium, Anthomyces, Phragmopyxis, je eine Art auf Leguminosen;
Uropyxis, 7 Arten auf Leguminosen, 3 auf Berberis, je 1 auf Verbenaceen und Oleaceen;
Diorchidium, mehrere Arten auf Leguminosen, je eine auf Berberidaceen und Labiaten.

Diese Beschränkung auf einen engen Kreis von Nährpflanzen scheint nun ihren Grund darin zu haben, daß diese Pilzformen sich schon in verhältnismäßig früher Zeit von der Hauptmasse der Pucciniaceen absonderten und in eigenartiger Weise weiter entwickelten unter gleichzeitigem Verlust der Fähigkeit, auf andere Pflanzen überzugehen. Ich habe an anderer Stelle (Annales mycologici. Vol. 1. p. 3—14) darauf hingewiesen, daß wir es hier mit einem Kreise engverwandter Gattungen zu tun haben, die von den nahe verwandten Familien der Rosaceen (diese im weiteren Sinne genommen) und Leguminosen oder gar von deren gemeinschaftlichen Stammeltern ihren Ausgangspunkt genommen haben. Es sind aber unter den ältesten Resten dikotyler Pflanzen gerade die hier in Frage kommenden Gattungen oder deren nächste Verwandte in einem auffallend hohen Prozentsatz vertreten. Neben Alnus, Betula, Corylus, Carpinus, Castanea, Populus, Salix und anderen kätzchenblütigen Dikotyledonen finden wir im Oligocän bereits Acacia, Prosopis, Dalbergia, Rosa, Crataegus, Sorbus, Pirus, Fraxinus und einige andere Gattungen vertreten, die noch heute Arten der oben genannten Pilzgattungen beherbergen. Einzelne jener Gattungen (Pirus, Crataegus, Dalbergia) reichen anscheinend bis in die jüngere Kreidezeit zurück. Hierdurch erhält also die Ansicht, daß die Gattungen Uropyxis, Phragmidium, Ravenelia etc. sich verhältnismäßig frühe vom Hauptstamm der Pucciniaceen abgezweigt haben, eine wichtige Stütze.

Das frühe, bis in die Kreideperiode zurück reichende Auftreten der Pomaceen ist von Wichtigkeit für die Beurteilung der Gattung Gymnosporangium, der einzigen Pucciniaceengattung, die zu Koniferen in Beziehung steht. Ihre zweifellos nahe Verwandtschaft mit Phragmidium und Uropyxis macht es wahrscheinlich, daß die Stammformen jener Gattung zunächst auf Pomaceen lebten, die Ausbildung der Teleutosporen aber vermutlich sehr bald auf Cupressaceen verlegt wurde. Wir haben hier also eine Umquartierung einer Sporenform von einer jüngeren Pflanzenform auf Wirte, die einem geologisch viel älteren Stamme angehören, und man könnte daraus vielleicht ein Argument gegen unsere Hypothese herleiten. Es ist aber nicht zu übersehen, daß die betreffenden Cupressaceengattungen vielleicht auch erst jener Zeit ihre Entstehung verdanken. Nach Potonié (Lehrbuch der Pflanzenpalaeontologie S. 323) sind „die schuppenblätterigen Formen einer

phylogenetischen Entwickelungsreihe im großen und ganzen die jüngeren". Reste von Cupressus, Libocedrus und anderen Cupressaceengattungen sind nicht selten in den Tertiärablagerungen; in welcher Beziehung zu den lebenden Formen aber die zu dieser Familie gezogenen Reste aus früheren Perioden stehen, konnte mit Ausnahme der Gattung Callitris bisher nicht ermittelt werden. Es ist also immerhin möglich, daß die Pomaceen und die in Frage kommenden Gattungen der Cupressaceen ungefähr gleichzeitig aufgetreten sein mögen.

Von den Pucciniaceen scheinen nur die Gattungen Uromyces und Puccinia, beziehentlich einzelne Arten derselben längere Zeit hindurch die Fähigkeit bewahrt zu haben, auf neue Nährpflanzen überzugehen, denn nur sie sind in zahlreichen Arten (Puccinia mit ca. 1300 gegenwärtig bekannten Species) ziemlich über alle Familien der Mono- und Dikotyledonen verbreitet. Bemerkenswert ist nur, daß gerade die beiden großen Familien der Rosaceen und Leguminosen sich fast ganz gegen Parasiten aus diesen beiden Gattungen abgeschlossen haben. Wir möchten daraus beinahe schließen, daß für diese Familien schon sehr frühzeitig der oben erwähnte Zustand von Stabilität eingetreten sei, der anscheinend die Pflanzen unempfänglich gegen eine Infektion durch einen fremden Parasiten macht. Sollte es ferner wohl mit der längeren Beibehaltung jener Fähigkeit zu pluvivorer Lebensweise zusammenhängen, daß wir unter den Pucciniaceen, wenn wir von der Gattung Gymnosporangium mit ihrem offenbar alten Heterözieverhältnis absehen, nur in den Gattungen Uromyces und Puccinia wirtswechselnde Arten antreffen?

Es ist auffallend, daß die Teleutosporen der heterözischen Arten dieser beiden Gattungen zum weitaus größten Teile auf Gräsern und grasartigen Gewächsen (Cyperaceen und Juncaceen) leben. Aus verschiedenen Gründen, die wir hier nicht zu wiederholen brauchen, ist es wahrscheinlich, daß in allen Fällen, wo nicht eine nachträgliche Aenderung eines bereits bestehenden Heterözieverhältnisses vorliegt, die Graspflanze den Parasiten von den betreffenden Aecidiennährpflanzen aus erhielt, also beispielsweise Puccinia graminis von Berberis, Puccinia coronata von Rhamnus aus auf Gräser überging. Ist dies nun auch ein Uebergang von älteren auf jüngere Pflanzen gewesen?

Glumaceenreste finden sich im Tertiär, nach Schenk (Handbuch der Palaeontologie) ist schon in den Kreidebildungen Grönlands Arundo grönlandica, in solchen Nordamerikas Arundo cretaceus gefunden worden. Es scheint sich aber auch im Tertiär nur um recht spärliche Funde zu handeln. Selbst in der jüngsten Stufe des Tertiär finden wir nur noch Arundo aegyptiaca und Bambusa lugdunensis angegeben. Carex- und Scirpus-Arten, und zwar solche, die der heutigen Flora angehören, finden wir erst unter den Pflanzen der Praeglacialzeit, erst von da ab scheinen auch Gramineenreste häufiger in den Ablagerungen aufzutreten. Wenn man also nach den spärlichen Angaben der Palaeontologen sich eine Vorstellung von diesen Verhältnissen zu

machen sucht, wird man auf die Vermutung geführt, daß die die Massenentwickelung der Gramineen und Cyperaceen und die Differenzierung namentlich der ersteren in zahlreiche Genera nicht vor Eintritt der Quartärzeit erfolgt sei. Fassen wir dagegen die Nährpflanzen der zu Gramineen- und Cyperaceenrosten gehörigen Aecidien ins Auge, so ist festzustellen, daß viele von ihnen wenigstens der Gattung nach schon im Tertiär, zum Teil bereits in den ältesten Zeiten desselben, vertreten waren. Als solche tertiäre Gattungen seien genannt: Berberis, Fraxinus, Sambucus, Lonicera(?), Asclepias, Smilax, Nymphaea, Euphorbia (Aecidienwirt für Puccinia Panici), Kompositen, auch wohl Clematis, und andere. Es liegt also auch von dieser Seite aus kein Bedenken gegen die Vorstellung vor, daß es sich bei der Entstehung dieser Heterözieverhältnisse um einen Uebergang von älteren auf jüngere Pflanzenformen handelt.

Trotz der großen Artenzahl der Gräser muß die Tatsache auffallen, daß sie gewissermaßen den Sammelpunkt für so viele und fast ausschließlich heterözische Arten aus den Gattungen Puccinia und Uromyces abgegeben haben, für Arten, die zum Teil sicher sehr verschiedener Herkunft sind. Die gewiß sehr plausible Annahme, daß die Gräser durch ihren meist geselligen Wuchs eine für die Erhaltung dieser Arten sehr günstige Pflanzengruppe darstellen, vermag allein dieses auffällige Verhältnis nicht zu erklären. Es scheint vielmehr, als ob die Hauptentwickelung dieser Gewächse, die Entstehung ihrer zahlreichen Gattungen und damit ein besonders günstiges Empfänglichkeitsstadium derselben zeitlich zusammengefallen sei mit einer in großem Umfange hervortretenden Tendenz jener Pilze, für einen Teil ihrer jährlichen Entwickelung neue Nährpflanzen aufzusuchen. Vielleicht sind beide Erscheinungen auf ein und dieselbe Ursache zurückzuführen. Dabei wird man in erster Linie an eine Aenderung der klimatischen Verhältnisse denken. Ob man nun die während des Tertiärs, besonders vom Miocän ab eingetretene Abkühlung oder die erst während der Diluvialzeit erfolgten Veränderungen des Klimas dafür wird verantwortlich zu machen haben, muß dahingestellt bleiben; nach unseren obigen Ausführungen dürfte man geneigt sein, die letztere Annahme für wahrscheinlich zu halten.

Es ist oben bereits angedeutet worden, daß auch bei Puccinia und Uromyces Aenderungen in bestehenden Heterözieverhältnissen dürften vorgekommen sein, wie sie schon für Melampsora angenommen werden mußten. Als solche Arten sind hauptsächlich Puccinia sessilis Schneider und Uromyces Scirpi (Cast.) Lagerh. (= U. lineolatus [Desm.] Schroet.) zu nennen. Bekanntlich stellen beide ein Konglomerat mehrerer biologisch verschiedener Arten dar, die aber nicht allenthalben scharf getrennt sind. Klebahn unterscheidet bei letzterer Art einen Uromyces Pastinacae-Scirpi mit Aecidien auf Pastinaca sativa, einen Uromyces Berulae-Scirpi mit Aecidien auf Berula angustifolia, einen Uromyces Maritimae Plowr. mit Aecidien auf Glaux maritima, und außerdem wäre noch eine von ihm nicht

geprüfte Art als Uromyces Hippuridis-Scirpi zu bezeichnen, deren Aecidien auf Hippuris vulgaris leben. Wegen der morphologischen Uebereinstimmung dieser Arten ist es unbedingt nötig, einen einheitlichen Ursprung für dieselben anzunehmen, dessen Nachwirkung auch in ihrem biologischen Verhalten noch nicht ganz verwischt ist. Es ist nun zwar denkbar, daß diese Stammform autözisch als eine plurivore Art zunächst auf den heutigen Nährpflanzen der Aecidiengeneration gelebt, nach Verlegung der Uredo-Teleutosporenform auf Scirpus maritimus aber sich in mehrere biologische Arten getrennt haben könnte. Wahrscheinlich ist aber diese Annahme nicht. Ebenso ist es auch unwahrscheinlich, daß Uromyces Scirpi zunächst autözisch auf Scirpus gelebt und dann die Ausbildung der Aecidien auf die verschiedenen oben genannten Pflanzen verlegt haben könnte, wie dies Klebahn bezüglich der Arten, die die alte Species Puccinia sessilis umfaßt, anzunehmen geneigt ist (p. 180). Denn unter den Hunderten von Rostpilzen, die auf Gramineen und Cyperaceen leben, ist nur eine einzige Art (Puccinia graminella [Speg.] auf Stipa) autözisch, und gerade diese zeigt in ihrer Entwickelung manches von den übrigen Arten abweichende (wiederholte Aecidienbildung ohne Uredo, Bildung von Teleutosporen an den Aecidienmycelien). Man wird also hieraus kaum die Vorstellung ableiten können, daß in früheren Zeiten manche der jetzt heterözischen Arten sich autözisch auf Gramineen sollten entwickelt haben. — Es bleibt also wohl nichts anderes übrig, als die jetzt bestehenden Heterözieverhältnisse des Uromyces Scirpi durch Abänderungen eines bereits vorhandenen heterözischen Generationswechsels zu erklären. Nehmen wir an, daß der heteröcische U. Scirpi zunächst aus einer etwa auf Hippuris lebenden autözischen Form entstanden sei, so müßten also dann auch noch andere Nährpflanzen (Glaux, Umbelliferen) für eine Infektion durch die Sporidien dieses Pilzes sich empfänglich erwiesen haben. Man wird wohl kaum fehlgehen, wenn man beide Vorgänge: die Entstehung der Heterözie und das Ergreifen neuer Aecidienwirte als ungefähr gleichzeitig ansetzt. Der erstere Vorgang setzt ja auf Seiten des Pilzes die Fähigkeit und die Tendenz voraus, den Kreis der bisherigen Nährpflanzen zu erweitern, möglicherweise unter dem Zwang einer durch die klimatischen Verhältnisse gebotenen Notwendigkeit; die Zeit seiner Entstehung bedeutet für ihn eine Periode wichtiger Veränderungen. Es ist daher schließlich nicht allzu schwer verständlich, wenn in dieser Zeit der Umgestaltung ihrer Verhältnisse einzelne Arten von dem neuen Teleutosporenwirt aus den Weg auch auf andere als die bisherigen Nährpflanzen sollten gefunden haben.

Solche Aenderungen, wie wir sie hier für Uromyces Scirpi und Puccinia sessilis annehmen, dürften auch in manchen anderen Fällen in Betracht kommen, z. B. für die Puccinien auf Carex Goodenoughii, deren Aecidien auf Ribes, Urtica, Parnassia und Pedicularis leben.

Es wurde bereits oben angegeben, daß die Gattung Bambusa

schon im Tertiär vertreten ist, also vielleicht mit zu den ältesten Gramineengattungen gehört. Es ist nun bemerkenswert, daß auf Bambusa und Arundinaria in Japan eine Uredinee lebt, die wie Puccinia zweizellige Teleutosporen bildet, aber wegen des Vorhandenseins von 3 Keimporen in jeder Sporenzelle wohl richtiger von dieser Gattung anszuschließen ist. P. Magnus hat für sie das Genus Stereostratum aufgestellt. Durch die angegebene Eigentümlichkeit sowie durch den hohen Wassergehalt der Sporenmembranen steht dieser Pilz den Gattungen Uropyxis und Gymnosporangium nahe. Es steht also dieses Vorkommen auf einer anscheinend sehr alten Gramineengattung gut in Einklang mit obiger Schlußfolgerung, daß die zuerst behandelte Gruppe von Pucciniaceengattungen sich schon frühe von dem allgemeinen Stamme der Puccinaceen abgezweigt habe. —

Wir wollen diese Betrachtungen, in denen wir versucht haben, die Verteilung der Rostpilze auf ihren Nährpflanzen aus der fortschreitenden Entwickelung der letzteren zu erklären, nicht schließen, ohne den vermutlichen Entwickelungsgang dieser Pilzgruppe nochmals in kurzen Zügen darzustellen, zugleich mit einigen Seitenblicken auf ihre geographische Verbreitung.

Es ist noch ungewiß, wann die ersten Rostformen aufgetreten sein mögen und wie ihre jährliche Entwickelung zunächst verlaufen sein mag, ehe sich der heterözische Generationswechsel bei ihnen herausbildete. Es wird sich wohl nie mit einiger Sicherheit feststellen lassen, ob schon die Farnkräuter der Steinkohlenzeit oder gar die des Silur und Devon Rostpilze beherbergten. Wir müßten sie uns dann wohl autözisch vorstellen, da sich erst mit dem Auftreten von Koniferen die der heutigen Entwickelung der Melampsoraceen entsprechenden Bedingungen verwirklicht fanden. Es liegt dagegen kein Grund vor, an ihrem Vorhandensein seit dem ersten Auftreten von Abietineen zu zweifeln, das nach Potoniés Angabe in das Rhät oder den Zechstein fällt. Während der ganzen folgenden Zeit bis zum Erscheinen der Angiospermen blieb der Formenkreis der Uredineen auf die Melampsoraceen beschränkt. Die weitgehende Umgestaltung der Phanerogamenflora, die vom Beginn der Kreidezeit an sich vollzog, ist dann auch auf die weitere Entwickelung jener Parasiten von großem Einfluß gewesen. Die alten heterözischen Arten verlegten zum Teil die Ausbildung ihrer Teleutosporen von den Farnkräutern auf die neugebildeten Pflanzen und entwickelten sich auf ihnen zu einem größeren Formenreichtum. So mögen entstanden sein die Gattung Pucciniastrum und Cronartium auf Cupuliferen, Melampsoridium auf Betulaceen, Melampsora auf Salicaceen. Die Anfänge derselben fallen sicher in die Kreidezeit, schon im Anfang des Tertiär dürften sie in weiter Verbreitung aufgetreten sein.

Von Seiten der Pflanzengeographen wird öfter darauf hingewiesen, daß die heutige Flora Japans, des Mittelmeergebietes und Nordamerikas (besonders wohl im Westen der Vereinigten Staaten) viele Züge der Tertiärflora noch aufweist. Es ist daher wichtig, festzustellen, daß auch in der Uredineenflora Japans sich viele

solcher altertümlichen Züge nachweisen lassen. Dazu gehört der Reichtum an Arten aus der Gattung Pucciniastrum. Es sind von dieser, auch wenn wir die Arten mit intracellular gebildeten Teleutosporen (Thekopsora) ausschließen, bisher 11 Species, darunter nicht weniger als 8 endemische und eine nur mit China gemeinsame von dort bekannt geworden. Dabei ist zu beachten, daß die Uredineenflora des Landes erst teilweise erforscht ist. Hervorzuheben ist ferner, daß einige von diesen Arten dort auf Pflanzentypen von hohem Alter leben, auf denen sie anderwärts noch nicht beobachtet worden sind und bei uns sicher fehlen. Als solche Arten sind zu nennen Pucciniastrum Coryli Kom., P. Castaneae Diet., P. Corni Diet. n. sp. auf Cornus vulgaris, wohl auch P. Tiliae Miyabe und P. Boehmeriae (Diet.) Syd. Daß die erstgenannte Species durch ihre Hinneigung zu Uredinopsis ein besonders altes Glied der Gattung darstellen dürfte, wurde bereits oben hervorgehoben. Dieselbe Bemerkung wie für die eben genannten Arten von Pucciniastrum gilt auch bezüglich des Cronartium quercuum Miyabe; in Europa ist die Gattung Cronartium nur auf Pflanzen vertreten, deren Alter sicher nicht soweit zurückreicht wie dasjenige der Gattung Quercus. — Von der Gattung Melampsoridium sind 3 Arten bekannt, zwei davon sind in Japan beobachtet, die dritte, Melampsoridium betulinum, dürfte kaum dort fehlen. Nur die letztere hat den Weg bis nach den westlichen Teilen Nord- und Mitteleuropas gefunden, während Mel. Carpini anscheinend nicht weiter nach Norden als bis Süddeutschland reicht und Mel. Alni nur bis zum Ural vorgedrungen ist. Als einen alten, mindestens bis in die Tertiärzeit zurückreichenden Uredineentypus können wir wohl auch die Formen von Uromyces betrachten, die unter dem Gattungsnamen Pileolaria Cast. zusammengefaßt worden sind. Man kennt davon mehrere Arten in Japan und China, einige in Nordamerika, eine in den Mittelmeerländern. Die Phanerogamenfamilie, auf der die meisten dieser Arten leben (Anacardiaceen), ist nach Schenk durch die Gattung Rhus vermutlich schon in der Kreide vertreten gewesen. Es erweist sich also auch heute noch die Verbreitung dieser Uromycesarten sozusagen als eine tertiäre.

Es hat nun aber im östlichen Asien eine noch weitergehende Fortentwickelung der Melampsoraceen Platz gegriffen durch Erzeugung solcher Gattungen, deren Teleutosporen wie diejenigen von Cronartium reihenweise gebildet werden. Phakopsora, Pucciniostele, Klastopsora, Coleopuccinia und Stichopsora sind solche ostasiatische Gattungen, die in Europa nicht vertreten sind und denen aus Indien nur noch Masseeella hinzuzufügen ist. Dagegen sind Phakopsora und Stichopsora auch aus Nordamerika bekannt. In Amerika, von Mexiko südwärts bis nach Argentinien hat sich dann auf Pflanzen aus verschiedenen Familien eine größere Zahl von Gattungen nach diesem Typus entwickelt. Pucciniosira, Dietelia, Alveolaria, Didymopsora, Trichopsora und Chrysopsora sind solche in Südamerika und teilweise den südlichen Ländern Nordamerikas

heimische Gattungen. Bei ihnen allen ist die Entwickelung auf die Bildung von Teleutosporen und eventuell Spermogonien reduziert, vermutlich weil ihnen durch das Fehlen der Abietineen in ihren Heimatländern die Gelegenheit zu heterözischer Lebensweise abgeschnitten war. Auch die Gattung Cronartium, die diesen Formenkreis in Europa repräsentiert, ist in Südamerika durch mehrere Arten (Cr. praelongum Wint., Cr. usneoides P. Henn., beide auf Kompositen) vertreten, die hier gleichfalls auf die Bildung von Teleutosporen beschränkt sein dürften; wenigstens sind Uredosporen bei ihnen nicht beobachtet worden.

Wir haben oben als wahrscheinliche Ursache für die Entstehung des heterözischen Generationswechsels bei Uromyces und Puccinia die Erniedrigung der Temperatur bezeichnet. Die größeren Temperaturschwankungen scheinen bei den alten Leptoformen mit ihrer einförmigen Entwickelung zunächst das Hinzukommen einer oder zweier anderer Sporenformen und dann eine teilweise Verlegung der Entwickelung auf neue Nährpflanzen begünstigt zu haben. Gerade die umgekehrte Wirkung, nämlich eine Vereinfachung der Entwickelung scheint der Uebergang in das gleichförmige Tropenklima bei jenen Melampsoraceen, wenn nicht hervorgerufen, so doch begünstigt zu haben.

Während es sich hier um eine Anzahl von Formen handelt, die sich vom Zwange der Heterözie freimachten durch eine Vereinfachung der Lebensweise und die dadurch die Möglichkeit erhielten, auch in Gegenden ohne Abietineen zu leben, wurde für die Gattung Melampsora eine Ausbreitung über die alten Arealgrenzen hinaus möglich teils durch Verlegung der Aecidienbildung von Abietineen auf andere Wirte, namentlich aber durch den Uebergang mancher Arten zur autözischen Lebensweise. Hierdurch ist das Vorkommen von Arten dieser Gattung beispielsweise in Australien und Afrika ermöglicht worden.

Wenn unsere obigen Kombinationen richtig sind, so hat sich aus der Gattung Melampsora heraus die Familie der Pucciniaceen entwickelt. Es ist beachtenswert, daß diejenige Form, die uns diesen Zusammenhang wahrscheinlich macht, im Bereich der alten Tertiärflora gefunden worden ist. Das erste Auftreten dieses neuen Formenkreises haben wir offenbar bis in die Kreidezeit zurückzuverlegen. Vermutlich noch in derselben Periode der Erdentwickelung sonderte sich von den übrigen Pucciniaceen ein Kreis von Formen ab, die hauptsächlich auf Rosaceen und Leguminosen eine eigenartige Weiterbildung zu einer ziemlich großen Mannigfaltigkeit von Gattungen erfuhren; die übrigen, durch nichts, auch nicht durch ein zeitiges Erlöschen der Pleophagie in ihrer Ausbreitung gehemmt, faßten mit den Gliedern der neuen Flora in allen Gegenden des Erdballes festen Fuß.

Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév.

Par **Albert Eberhardt,**
Professeur de gymnase à St-Imier.

Avec 1 tableau.

Les travaux biologiques de ces dernières années, en vue de fixer la spécialisation des Champignons parasites, plus particulièrement des Urédinées, ont ouvert des voies nouvelles aux recherches botaniques. Sur les conseils de notre maître, M. le Professeur Ed. Fischer, nous avons entrepris d'étudier, dans ce but, les Péronosporacées.

Mais à cause des difficultés de se procurer des matériaux d'infection, de les faire germer, d'avoir à sa portée et dans le même moment les conidies et les plantules à infecter, nous avons bientôt vu qu'il était nécessaire de réduire nos études actuelles à un seul genre, pour les étendre plus tard aux autres Péronosporacées.

C'est sur Cystopus candidus Lév. que notre choix s'est arrêté.

Les Crucifères, hôtes de ce parasite, que nous avons récoltées pour nos expériences biologiques, présentant souvent des hypertrophies remarquables, nous avons décrit ces dernières. D'où deux parties dans notre travail:

1⁰ Les différenciations morphologiques et histologiques des hôtes;

2⁰ Les recherches sur la spécialisation du parasite.

1⁰ Différenciations morphologiques et histologiques des hôtes.

1. Introduction.

Les Crucifères attaquées par notre endophyte appartiennent aux genres les plus divers. Cyst. candidus est même signalé sur deux familles voisines de la précédente: les Capparidées et les Résédacées. Une quarantaine de genres, dont une trentaine appartiennent aussi à la Suisse, ont été recoltés avec Cyst. candidus dans diverses parties de l'Europe. La diversité des genres permettait a priori de supposer une variété proportionnelle dans les manifestations pathologiques inhérentes au parasite qui nous occupe. Nous verrons, par la première partie de notre travail, que cette variété, loin d'être étendue, montre au contraire un groupe restreint de types hypertrophiques.

Si la littérature sur Cyst. candidus abonde en citations d'anomalies macroscopiques d'origine parasitaire, l'étude des déviations histologiques ne comporte, à notre connaissance, que le travail de J. Wakker[1]) et celui de Peglion[2]). C'est le mémoire du

1) Pringsheims Jahrbücher, Bd. XXIV.
2) Rivista di Patologia vegetale, 1893.

premier auteur que nous allons analyser dans ses traits essentiels, pour donner ensuite connaissance de nos propes recherches.

La méthode de J. Wakker est des plus simples: la confrontation d'une Crucifère normale donnée, avec le même végétal présentant des aberrations dues à Cyst. candidus. Les études de ce botaniste ont porté principalement sur les espèces suivantes: Brassica nigra, Sisymbrium officinale, Sisymb. pannonicum, Senebiera coronopus.

Brassica nigra a fourni des anomalis remarquables de tiges et de fleurs, plus rarement de feuilles, celles-ci ne montrant le plus souvent que des gonflements localisés autour des pustules conidiales. Tantôt c'est une seule fleur, tantôt c'est une inflorescence entière qui donne asile au parasite. Les fleurs monstrueuses présentent cependant tous les organes originels: calice, corolle, étamines et pistil; mais les uns comme les autres avec des dimensions doubles ou triples, et des caractères anatomiques s'éloignant beaucoup de ceux qui coexistent dans la fleur normale. C'est ainsi que les organes floraux montrent tous une virescence prononcée, provoquée par une surabondance de chlorophylle dans les parenchymes. Ceux-ci contiennent des faisceaux libéro-ligneux surnuméraires, et sont parcourus dans les espaces intercellulaires par des hyphes nombreux, nourrissant d'innombrables oospores qui finissent par écraser les tissus. Un cambium est signalé dans les faisceaux du filet staminal, tandis que l'anthère présente des loges polliniques plus ou moins rudimentaires et irrégulières. L'ovaire n'est pas sans de fortes hypertrophies, et contient toujours des ovules atrophiées. Quant aux tiges, et particulièrement les axes d'inflorescences, elles montrent une enflure souvent considérable due aux oospores et à l'hypertrophie des cellules parenchymateuses. Les faisceaux ne sont plus disposés en courbe isodiamétrique, et leur étude fait voir un phloème normal, un cambium actif, un bois secondaire non développé par places, et certaines parties sclérenchymateuses transformées en parenchymes à parois minces. De plus, le cambium interfasciculaire est souvent irrégulier. Les épidermes de tous les organes infectés sont plus ou moins anormaux et montrent une division active dans les parties très gonflées.

Sisymbrium officinale dénote des aberrations semblables à celles de Brassica nigra. Ici encore, ce sont les fleurs et les tiges d'inflorescences que semble préférer le parasite. Celui-ci produit dans les organes précités des déformations et des gonflements parenchymateux remplis d'oospores. Tandis que les tiges de Brassica nigra habitées par Cyst. candidus se distinguent par l'absence, ou tout au moins l'irrégularité d'un cambium interfasciculaire, Sisymbrium officinale anormal présente ce même cambium d'une façon bien nette; il est amylifère. Dans les tiges saines, il a disparu depuis longtemps.

Senebiera coronopus n'a fourni à J. Wakker que des feuilles, fruits et tiges hypertrophiées. Les tiges déformées ont beaucoup d'analogie avec celles de Brassica nigra. On y voit un parenchyme chlorophyllien gonflé et oosporifère; des faisceaux

à xylème partiellement transformé en parenchyme, de sorte que les vaisseaux semblent dispersés, un cambium intrafasciculaire actif, inactif depuis longtemps dans les tiges normales; un cambium interfasciculaire irrégulier ou absent. Les feuilles peuvent porter en même temps des pustules et des oospores; en outre, presque toutes les cellules du parenchyme sont susceptibles de contenir de l'amidon, n'existant dans la feuille normale que dans le voisinage des faisceaux libéro-ligneux. Le fruit contenant des oospores est hypertrophié dans ses parois, et parcouru par des faisceaux libéro-ligneux surnuméraires; ses ovules sont atrophiés.

J. Wakker cite Sisymbrium pannonicum infecté comme une aberration des plus intéressantes. Le parasite affecte les tiges, feuilles, fleurs et fruits. Les tissus caulinaires sont peu hypertrophiés, avec oospores dans le parenchyme cortical. Si les organes sexuels parasitaires font défaut, l'épiderme est soulevé par de nombreuses pustules conidiales. Le pédicelle floral se gonfle fortement par l'hypertrophie des cellules corticales, souvent écrasées par les oospores. La fleur, dans son ensemble, conserve la symétrie cruciforme, mais avec des dimensions exagérées et une virescence très apparente de la corolle et des étamines. L'ovaire d'un exemplaire sain possède sous l'épiderme interne, une assise élégante de fibres sclérenchymateuses, complétement transformée, dans le pistil attaqué, en cellules irrégulières, allongées dans le sens de l'axe du fruit, et à parois minces. Nous retrouverons une particularité semblable, dans nos propres études, ayant son équivalent dans ce que nous appellerons l'assise fibro-palissadique. Les pistils des fleurs très anormales sont épaissis, ramassés, tortueux, à parenchyme hypertrophié et oosporifère, à nombreux faisceaux surnuméraires et à ovules atrophiés; en outre il existe un cambium fasciculaire qui n'est signalé ;que dans le jeune ovaire normal. L'étamine ne présente pas d'anthère dans les androcées infectés décrites par J. Wakker. Certains fruits très tourmentés et gonflés montrent des pustules à l'extérieur et à l'intérieur, soulevant respectivement les épidermes externe et interne; ils ne possèdent pas d'oospores et leur parenchyme est très amylifère, mais par contre pauvre en chlorophylle.

Peglion[1]), dans son travail, ne décrit que des hypertrophies sur Raphanus Raphanistrum. Il constate souvent l'amincissement des sclérenchymes, l'exagération du diamètre des cellules. Dans l'écorce de la tige, il cite de nombreux grains d'amidon, faisant défaut dans l'écorce normale. Des coupes comparative sd'axes caulinaires portant des pustules plus ou moins âgées, montrent que l'amidon est résorbé, peu à peu, à mesure que s'avance la maturation des conidies.

Les auteurs ayant écrit sur Cyst. candidus, ont signalé des formes hypertrophiques dues à notre parasite. C'est ainsi que De Bary[2]), Schnetzler[3]), Frank[4]), Magnus[5]), Luerssen[6]),

1) loc. cit.
2) Ann. des sciences, et Morphol. u. Physiol. der Pilze.
3) Bullet. société vaudoise 1876.
4) Krankh. der Pfl. Bd. II.
5) Verhandl. des Botan. Vereins der Provinz Brandb. Bd. XXXIII.
6) System. Bot. I. p. 79.

Just[1]), Berkeley[2]), etc. font allusion dans leurs travaux, à des déformations de tiges, feuilles et fleurs de Capsella, Lepidium, Sinapis, Cochlearia, Brassica. Mais ils s'arrêtent là, et ne donnent aucune description morphologique ou histologique des végétaux attaqués. Encouragé par les résultats de Wakker, nous avons entrepris l'étude de quelques Crucifères trouvées en assez grande abondance pour être examinées avec fruit.

C'est l'ensemble de nos résultats que nous nous proposons d'exposer dans le chapitre suivant, nous réservant une comparaison finale avec les études de Wakker résumées plus haut dans ce but, pour en tirer le processus général de Cyst. candidus. On verra que ce processus est commun à toutes nos Crucifères.

2. Exposition de nos recherches.

Notre méthode d'observation est la suivante. Tous les exemplaires sains ou anormaux, à l'exception de Diplotaxis tenuifolia, ont été étudiés sur le frais quant au faciés du végétal, à la forme et aux dimensions des organes, à la coloration externe. Nous avons pris immédiatement des coupes qui ont été examinées dans l'eau; on a noté sur le champ la dispersion et la fréquence de la chlorophylle, sa couleur verte ou plus ou moins verdâtre, la présence ou l'absence du pigment violet, si soluble dans la glycérine et si fugace par la chaleur. Quelques réactions ont été nécessaires pour s'assurer de la présence de cellules amylifères, et pour déceler les tissus lignifiés. Après cet examen, toutes les coupes ont été incluses dans la glycérine, puis chauffées modérément pour en exclure les bulles d'air, et leur étude a été faite à loisir.

Nos recherches ont portées sur les espèces suivantes: Capsella bursa pastoris, Capsella Heegeri, Lepidium sativum, Arabis alpina, Brassica Rapa, Diplotaxis tenuifolia, Sinapis arvensis et Raphanus Raphanistrum.

a) Capsella bursa pastoris. Nous avons tenu avant tout à disposer de nombreux exemplaires portant Cyst. candidus. L'examen seul d'une riche moisson pouvait nous conduire à un groupement des diverses hypertrophies, si variées de prime abord, et cependant si constantes dans leurs traits généraux. Corgémont, Sonceboz, St-Imier, le Chasseral (par exemple sous la Métairie du bois Raiguel à 1200 m d'altitude, sous le Signal à 1590 m, à la Métairie du milieu de Bienne à 1450 m, etc.), La Ferrière, Chaux-de-Fonds, Tavannes, Delémont, Reuchenette, Bienne, Berne, Zurich, Zoug, Goldau, Küssnach (Schwiz), ont été explorés avec fruit et ont fourni en commun plus de cinq cents plantes, présentant depuis les déformations presque insensibles jusqu'aux monstruosités les plus apparentes.

Comme Peronospora parasitica est avec fréquence le compagnon de Cyst. candidus, une comparaison des processus particuliers de nos deux endophytes était tout indiquée pour dé-

1) Bot. Jahresber. 1876.
2) On the White Rust of Cabbages 1848.

voiler la valeur spéciale de chaque parasite dans les anomalies de la Crucifère qui nous occupe. Ainsi, l'étude de Capsella bursa nous conduira-t-elle à l'examen morphologique des déformations dues à chacune des deux Péronosporacées, puis à l'histologie de ces mêmes déformations.

Cyst. candidus produit ses pustules sur toute la plante nourricière, à l'exception des racines et des ovules. Si l'on examine les inflorescences, on distingue une suite de types hypertrophiques, communiquant au végétal des faciès divers. L'extrémité seule de la tige florifère peut présenter un gonflement; il se forme alors un bouquet très dense de boutons terminaux hypertrophiés qu'on décrira plus loin. Les conidiophores y sont partout nombreux; ils laissent entre leurs groupes, plus ou moins anastomosés, des espaces brillants d'aspect cireux, d'un vert clair, bordés de violet foncé. Les pédicelles sont très enflés, surtout à la base.

Au lieu de se localiser à l'extrémité, l'hypertrophie peut s'étendre sur une plus grande longueur de la branche florifère; alors, cette dernière est ondulée, courbée plus ou moins, parfois sous forme d'une spirale ayant jusqu'à trois tours de spire irréguliers. Les pustules sont anastomosées; elles laissent entre elles des espaces vert clair d'aspect cireux, et bordés de violet; les pédicelles sont gonflés et supportent des fleurs et fruits monstrueux, tandis que le sommet est occupé par le bouquet terminal de boutons anormaux.

La teinte violette, que nous venons de signaler et qui sera localisée plus loin, colore parfois vivement la surface même des pustules. Certains exemplaires d'axes florifères hypertrophiés sur une trentaine de centimètres, présentaient les particularités suivantes: à la base, sur six à dix centimètres, on remarque toutes les pustules d'un beau rouge violacé au lieu d'être blanches; les espaces non soulevés par les conidiophores sont d'un violet foncé et d'aspect cireux; plus haut, les pustules violettes deviennent rares, et enfin l'inflorescence se termine par dix à vingt centimètres de tige à vésicules conidiales blanches et bordées de violet.

Il arrive souvent que le parasite localise le gonflement et les pustules sur un court manchon, à quelque distance de l'une des deux extrémités de la tige florifère, laissant la branche intacte partout ailleurs. A l'endroit couvert de vésicules, avec espaces vert clair et zones violacées, l'axe est brusquement dévié de la verticale et la partie anormale va jusqu'à former un angle de 90° avec la direction primitive, tandis que plus haut, l'inflorescence reprend sa verticalité. Le manchon hypertrophié porte généralement quelques fleurs monstrueues.

Une tige mère, dès la base, avec toutes ses branches, peut être atteinte par le parasite; d'autres tiges de la même plante, partant aussi de la rosette basilaire, ne présentent aucune trace de Cystopus, et montrent les longues branches fructifères. L'axe caulinaire anormal est court, ramassé, épais; ses ramifications n'ont que quelques centimètres, et la partie florifère se réduit à un bouquet de boutons. Tous les organes, y compris les feuilles, sont

recouverts de nombreuses vésicules conidiales. Qu'il nous suffise de faire remarquer, pour préciser la constance des effets hypertrophiques, l'aspect cireux et la teinte violacée déjà signalés plus haut, ainsi que l'ondulation de la tige.

Les exemplaires de Capsella bursa entièrement attaqués sont assez rares. De la rosette basilaire, dont les feuilles sont verdâtres et couvertes de pustules, partent des tiges semblables à celle qui vient d'être décrite. La plante prend un aspect ramassé, rabougri et chlorotique.

Il reste à signaler ce que nous appellerons par la suite des rameaux-courts, et que nous retrouverons dans Lepid. sativum, Caps. Heegeri, Brass. Rapa et Sinapis arvensis. Si l'on examine la base d'une branche saine terminée par une longue inflorescence, on remarque de très petits rameaux à l'aisselle des feuilles. Ces ramuscules restent très courts et ne se développent que si l'on vient à amputer la longue inflorescence terminale. Cyst. candidus provoque la croissance de ces rameaux-courts. En effet, certaines branches terminées en longues inflorescences montrent à l'aisselle des feuilles de petits bourgeons de cinq à dix millimètres, enflés, verdâtres, sans pustules; le microscope y révèle un mycelium limité à la moelle. Si l'on suit la croissance de ces rameaux, ils ne tardent pas à atteindre une longueur de 5 à 10 cm; un examen microscopique décèle des hyphes dans la moelle et l'écorce. Peu de temps après, les mêmes rameaux sont couverts de vésicules avec coloration violette bordant ces dernières, et avec un bouquet terminal de boutons anormaux. En outre, ils portent eux-mêmes de petits bourgeons axillaires, de sorte que les rameaux-courts reproduisent, mais en plus petit, le faciès d'une tige mère entièrement attaquée.

Les tiges très anormales, de même que les rameaux-courts, nous conduisent à parler des feuilles hypertrophiées, car c'est presque exclusivement sur ces organes très gonflés que les limbes foliaires sont profondément modifiés par notre parasite. Les feuilles sont épaisses, charnues, bosselées, chlorotiques, souvent enroulées sur les bords; les pustules en couvrent la face inférieure et se rencontrent aussi, mais disséminées, à la face supérieure. La coloration violette s'y observe rarement. Si l'on s'adresse à des exemplaires de Caps. bursa partiellement infectés, les feuilles ne portent d'ordinaire que quelques pustules entourées d'une zone verdâtre, le reste de l'organe conservant sa couleur vert foncé.

La fleur et le fruit semblent être les tissus de prédilection du parasite. Aussi, y voit-on souvent des hypertrophies volumineuses. Pour donner une idée exacte des perturbations apportées par Cystopus, rappelons brièvement les dimensions florales de Capsella bursa saine. Le pédicelle peut avoir un tiers de millimètre de diamètre et porte un bourrelet réceptaculaire. La fleur a une longueur de 2 à $2^1/_2$ mm, et tous ses organes sont caducs aussitôt que le pistil fécondé dépasse les pétales en longueur, c'est-à-dire qu'il atteint 3 mm. Le fruit mûr oscille entre 8 et 10 mm de longueur.

Les fleurs anormales ont souvent tous leurs organes avec des dimensions doubles ou triples des précédentes. Elles portent des pustules sur tous les verticilles et se distinguent par la persistance des périanthes et de l'androcée par la conservation de la symétrie florale, et par la virescence des pétales et étamines. Le pédicelle est fortement hypertrophié, avec l'appendice réceptaculaire très marqué. Le calice est irrégulier, à sépales bosselés. La corolle est verte en tout ou en partie; dans ce dernier cas, la virescence est localisée dans la bande médiane du pétale, ainsi que les pustules qui respectent la fraction marginale restée blanche. Ce sont les étamines et les pistils qui fournissent les aberrations les plus singulières. Tandis que le plus souvent l'androcée ne présente que des filets allongés, épaissis et verts, à anthères hypertrophiées ou desséchées, un petit nombre de Capsella bursa, provenant de Corgémont et de Chaux-de-Fonds, ont livré des anomalies inattendues. Les étamines se présentent alors sous l'aspect de lames foliacées, de colonnes coudées brusquement, de massues plus ou moins tourmentées, montrant toutes une virescence prononcée et supportant des appendices anthériformes ou stigmatiformes. Certaines étamines réunissent vers leur sommet deux à quatre expansions dont quelques-unes contiennent des restes de loges polliniques, et dont les autres sont parenchymateuses ou en forme de colonne à papilles de stigmates. Les étamines claviformes portent jusqu'à six appendices papilleux. La plus intéressante aberration de ce genre est certainement celle que représente la Fig. A. Les étamines, foliacées et en capuchon, portent au sommet des papilles stigmatiformes et sur chaque bord une rangée d'expansions ovulaires dans lesquelles on distingue fort bien le funicule, ainsi que le nucelle et le tégument en formation. Deux des étamines ne possèdent sur leur partie marginale que des dents arrondies et massives. Les deux carpelles ne sont pas soudés; ils présentent les mêmes anomalies que les étamines, mais de dimensions plus grandes. D'après ce qui précède, Cystopus semble provoquer des phénomènes de régression vers la feuille, et de progression vers le pistil.

Un gynécée aussi éloigné du type normal que celui qu'on vient de décrire doit être bien rare, puisqu'il ne s'est rencontré que dans sept fleurs. Les étamines avec papilles de stigmates sont plus communes. D'ordinaire, les pistils hypertrophiés sont boursouflés, bosselés, épaissis, à pustules externes, à cavité interne large, à ovules atrophiés; le style est persistant et participe au gonflement général. Les pistils les plus hypertrophiés ont jusqu'à 22 mm de longueur et 10 mm de largeur. On remarque aussi, dans des inflorescences peu attaquées, des fruits presque mûrs ne portant que une ou deux pustules; ils sont de forme presque normale, à graines saines pouvant germer. Ici, les verticilles floraux sont tombés, de sorte que tout fait penser à une invasion tardive du parasite. Ajoutons que les organes floraux hypertrophiés prennent un aspect brillant et cireux, et qu'ils prossèdent par places une zone violacée bordant les pustules.

Si nous procédons à l'étude morphologique des déformations

dues à Peronospora parasitica, l'examen des exemplaires anormaux conduit, comme dans le cas de Cyst. candidus, à un petit nombre de types hypertrophiques. Ici encore, les matériaux ont été abondants et provenaient de presque toutes les localités citées plus haut à propos de notre premier parasite.

Peronospora parasitica produit ses conidiophores sur tous les organes de Capsella bursa, à l'exception des racines. Mais la préférence est donnée à la tige; c'est en effet cette dernière qui offre les hypertrophies les plus volumineuses, toujours couvertes d'un revêtement de conidiophores donnant aux parties renflées l'apparence de tiges saupoudrées de farine. Décrivons les principaux types anormaux. Le parasite peut limiter ses effets à l'extrême bout d'une longue inflorescence. Cette dernière paraît tronquée, l'extrémité se recourbant en une petite crosse qui porte des fleurs ou des fruits avortés, tandis que la partie inférieure est normalement garnie de fruits sains.

Le parasite n'a pas souvent des effets aussi bénins. C'est alors toute la partie supérieure de l'inflorescence sur 3 à 15 cm, qui montre une hypertrophie de son axe sinueux. Le sommet peut être garni de fleurs saines, ou se terminer brusquement par des boutons atrophiés.

Si le gonflement se limite à un manchon de quelques centimètres situé dans la région moyenne de l'inflorescence, on voit en cet endroit un brusque rejet latéral de la tige. Ces hypertrophies locales peuvent s'étager au nombre de deux à cinq, et produire autant de courbes brusques, pendant que la partie non gonflée qui leur est immédiatement supérieure a une tendance à reprendre la direction verticale.

Les tiges partant de la rosette basilaire, de même que les grandes branches, montrent aussi d'une façon très nette le modus faciendi de Peronospora parasitica. Les courbures et les hypertrophies y sont souvent prononcées et générales. L'une de ces tiges mères revêtue de conidiophores, dont toute la partie supérieure était courbée en une boucle ovalaire d'environ 8 cm de diamètre, avait une épaisseur de 10 mm dans sa partie la plus enflée. Ses feuilles étaient normalement développées et ne présentaient aucune trace du parasite. Toutes les ramifications axillaires ainsi que l'axe d'inflorescence terminal, étaient très courts et terminés par un bouquet de boutons normaux.

Une grande similitude caractérise toutes les hypertrophies que nous venons de décrire: les parties gonflées sont mates, plus ou moins verdâtres, cassantes, à cassure granuleuse; elles ne montrent jamais de couleur violacée. Le plus souvent aussi, l'hypertrophie est plus forte que celle dont Cyst. candidus est la cause.

Il reste à dire que les feuilles, fleurs et fruits des tiges atteintes par Peron. parasitica sont rarement anormaux. Les conidiophores ne se montrent sur les feuilles que par petits groupes, rarement sur toute la surface. On ne trouve pas souvent les buissons de conidiophores sur les calices, et alors le parasite influe à peine sur ces organes. Plus souvent, les boutons ter-

minaux de l'inflorescence sont atrophiés, et montrent tous les verticilles floraux comme flétris et presque incolores. Les fruits couverts de conidiophores sont rares, irréguliers, atrophiés, à surface bosselée, à ovules desséchés. On peut remarquer des fruits normaux et à graines saines dans une de leurs moitiés, et atrophiés dans l'autre moitié.

En comparant les effets hypertrophiques dont Cystopus et Peronospora sont la cause initiale, on voit qu'ils sont loin d'être les mêmes, et que les caractères différentiels peuvent se résumer dans le tableau suivant.

	Cystopus candidus.	Peronospora parasitica.
1) Hypertrophies des tiges:	Moins fortes que dans Peronosp.	Plus fortes que dans Cystopus.
2) Organes préférés:	Tiges et fleurs.	Tiges.
3) Aspect des Organes attaqués:	Brillant et cireux.	Mat.
4) Cassure des tiges attaqués:	Peu ou pas cassantes.	Très cassantes.
5) Fleurs et fruits:	Hypertrophie très prononcée et persistance des verticilles.	Atrophie.
6) Pigment violet:	Manque rarement.	Manque toujours.

Une question se pose après la constatation des divergences ci-dessus. Les deux parasites, vivant souvent côte à côte ou enchevêtrés sur le même hôte, est-il possible, dans les effets combinés dus aux deux Péronosporacées, de retrouver les anomalies propres à chaque endophyte? Si l'on s'adresse à des pieds de Caps. bursa doublement infectés, on constate la plus grande variété: depuis les exemplaires ne portant sur une certaine longueur que des conidiophores de Peronospora et ne montrant sur un autre espace que des pustules de Cystopus, jusqu'aux tiges qui présentent le plus parfait mélange des deux hypertrophytes. Pour préciser, examinons quelques-un des cas les plus typiques.

L'axe d'inflorescence, très gonflé, tourmenté, peut être intégralement couvert des buissons conidiféres de Peronospora; les pédicelles et fleurs portent seuls de nombreuses pustules de Cystopus. Tous les organes offrent les caractères hypertrophiques distinctifs de chaque parasite, caractères déjà décrits dans les pages précédentes.

L'influence particulière des deux Péronosporacées est très apparente si l'une d'elle occupe le bas de l'inflorescence et l'autre la partie immédiatement supérieure. C'est ici que la puissance hypertrophique de Peronospora se met en valeur: le gonflement de l'axe est toujours plus grand que celui dont Cystopus est la cause efficiente. Il va sans dire que chaque endophyte impose son influence aberrante particulière à la portion d'inflorescence qu'il affecte.

Si pustules et conidiophores se mélangent sur l'axe d'inflorescence, celui-ci est fortement renflé, avec ses fleurs et fruits hypertrophiés par Cystopus, tandis que de rares fruits sont atrophiés par Peronospora.

Les nombreux matériaux que nous avons eus sous les yeux permettent de formuler ainsi le résultat de la synergie des deux endophytes: les aberrations provoquées sur un même pied de Capsella bursa par chaque parasite se retrouvent avec leurs caractères propres; mais c'est généralement Cyst. candidus qui impose son faciès aux exemplaires maladifs.

Quittons l'examen macroscopique de Capsella bursa et concentrons notre attention sur les anomalies cellulaires de cette Crucifère. Pour mettre bien en valeur les aberrations histologiques d'origine parasitaire, il est nécessaire de décrire brièvement les éléments organiques de Capsella non infectée.

Une tige saine (Fig. B) montre un épiderme (*ép*) régulier stomatifère, composé de cellules allongées dans le sens de l'axe et rectangulaires en coupe transversale. Le parenchyme cortical sous-jacent (*éc*) comprend cinq ou six assises où abonde la chlorophylle, et dont les éléments sont ovalaires et séparés par des méats. L'endoderme (*end*) est à cellules polygonales non chlorophylliennes, formant une zone claire contre le cylindre central. Celui-ci possède une gaîne interfasciculaire sclérenchymateuse (*g*) à plusieurs assises cellulaires, et des faisceaux libéro-ligneux dont le bois primaire est assez loin dans la moelle. Le xylème secondaire (*xy*) a ses éléments épaissis et lignifiés. Le cambium intrafasciculaire (*cb*) est bien évident mais peu actif. Un faisceau de fibres sclérenchymateuses (*f*) est adossé à l'extérieur du phloème (*ph*). La moelle (*m*) comporte de grandes cellules sphéroïdales avec méats. Dans les tiges mères très grosses, il est possible de rencontrer des arcs cambiaux interfasciculaires peu actifs et situés en dehors de la gaîne sclérenchymateuse, arcs qui vont rejoindre latéralement le cambium fasciculaire. Mais les tiges ordinaires, les branches et les axes florifères ne montrent pas d'assise génératrice entre les faisceaux.

Si l'on s'adresse à une tige gonflée par Cyst. candidus (Fig. C), on voit de prime abord un amincissement de toutes les parois cellulaires des sclérenchymes, et même du xylème par places. L'épiderme est hypertrophié, à cellules irrégulières, moins allongées mais plus élargies que dans les axes caulinaires non attaqués. Les stomates sont de grandeur normale. L'écorce (*éc*) présente une profonde modification. Ses cellules, à chlorophylle verdâtre, sont hypertrophiées jusqu'à acquérir un diamètre trois fois supérieur au diamètre normal. Elle est parcourue, dans ses méats, par un mycelium abondant. L'assise endodermique (*end*) se compose de grosses cellules dont les parois sont irrégulièrement ondulées. La gaîne sclérenchymateuse (*g*) est méconnaissable dans les tiges fortement attaquées et couvertes de vésicules conidiales, tant ses éléments, irréguliers et gonflés, ressemblent à du parenchyme à parois minces; on y remarque toujours, se raccordant au cambium des faisceaux, une zone génératrice interfasciculaire.

Les tiges moins gonflées et à pustules plus rares sont dépourvues d'assise cambiale interfasciculaire; elles conservent le sclérenchyme.

Ouant aux faisceaux libéro-ligneux, le xylème reste à peu près intact; cependant le bois secondaire a souvent ses élements à parois amincies, de diamètre plus large que normalement. Parfois même, des lignes radiales de parenchyme lacèrent en plusieurs portions le faisceau libéro-ligneux. Le cambium intrafasciculaire. (*cb*) est toujours très actif et régulier. Le phloème (*ph*) a ses tubes criblés un peu élargis. Les éléments constitutifs du faisceau sclérenchymateux dorso-libérien (*f*) sont hypertrophiés et à parois minces; seules les tiges peu infectées conservent les fibres épaissies. La moelle (*m*) est un peu gonflée lorsqu'elle donne accès aux hyphes.

Une particularité des plus curieuses, c'est la présence d'une coloration violette au plancher des pustules conidiales ou dans leur voisinage immédiat, aussi bien sur la face nord des tiges que vers le sud. On verra plus loin la valeur de cette dernière remarque. La teinte rouge-violacée a déjà été signalée plus haut dans notre étude sur la morphologie externe. Il nous reste à en préciser les caractères.

En observant dans l'eau des coupes d'axes caulinaires montrant déjà des symptomes d'hypertrophie, mais sur lesquels aucune vésicule conidifère n'apparaît encore, on voit à certains endroits (Fig. F) le mycelium de Cystopus se préparer à produire des conidiophores, en contournant les cellules corticales de l'assise sous-épidermique. Les ramifications mycéliales deviennent claviformes, s'insinuent entre les cellules vertes et l'épiderme, soulèvent celui-ci tandis que la première assise corticale devient violette, tout en conservant sa chlorophylle dans la région pariétale des cellules. Les tiges franchement hypertrophiées, et à pustules nombreuses, fournissent des coupes non moins remarquables: presque tous les éléments corticaux, formant le plancher des vésicules, sont vivement colorés en rouge-violacé, mais uniquement dans l'assise infra-épidermique. Le voisinage immédiat des pustules offre souvent une zone violacée limitée à cette même assise sous-épidermique. La coloration se trouve tout autour de la tige, et non pas seulement du côté de la plus forte radiation. Si les coupes passent par des pustules de couleur violette au lieu d'être blanches, on remarque que les conidiophores ont en même temps soulevé, en une pellicule unique, l'épiderme et la première assise corticale dont les cellules, presque toutes violettes, sont écrasées contre l'épiderme et sont séparées par de grands méats irréguliers (Fig. E). Dans toutes les cellules violettes, le pigment est uniformément dissous dans le contenu des éléments. Il peut s'observer longtemps dans les coupes baignées d'eau froide; mais en chauffant une préparation aqueuse, il devient très pâle puis disparaît. La glycérine chaude ou froide ne tarde pas à effacer la coloration. Nous avons rencontré cette dernière d'une façon générale chez tous les nombreux exemplaires de Capsella recueillis dans les stations indiquées plus haut. On voit donc par là, la constance du phénomène.

Nous étions donc tenté d'attribuer à Cystopus candidus

l'action créatrice d'un pigment, espèce de mouvement chimique répondant à la stimulation du parasite sur les cellules corticales. Mais nous avons préféré nous adresser à la plante saine en y recherchant la présence de la couleur. Bien nous en a pris. Les stations de Capsella bursa visitées ont fourni des exemplaires sains plus ou moins nombreux, présentant la coloration violette des tiges, pédicelles et calices sur la face orientée vers les radiations solaires. Certains échantillons montraient aussi des feuilles et fruits teintés de violacé à leur face supérieure. Les parties exposées au nord, ou tournées vers le sol, ne montrent pas de coloration. Il en est de même des Capsella ayant végété à l'ombre. Des coupes nombreuses d'organes sains ont toujours montré le pigment rouge-violacé localisé dans la première assise corticale externe, et ses caractères, par rapport, à l'eau et à la glycérine, ne se distinguent en rien de ceux cités plus haut dans la plante maladive.

Pour nous convaincre de l'influence de la radiation sur Capsella saine, il suffisait de faire subir une torsion de 180° à une tige d'une plante en pleine croissance, et déjà teintée de violacé sur la face sud. Au bout de deux ou trois semaines, dans les mois très ensoleillés, on obtient une coloration violette dans la première assise corticale de la face ainsi orientée de force. En déplaçant avec précaution des plants de Capsella, tout en conservant à leurs racines une grande motte de terre, et en modifiant l'orientation primitive de 180°, on obtient une nouvelle coloration violette sur les tiges n'ayant pas encore achevé leur croissance. En observant des plants de Capsella près d'un mur blanc, on voit que certains d'entre eux ont une forte coloration violacée vers le sud, et une teinte très pâle sur la face tournée vers le mur, à cause de la réflexion de la radiation.

Ainsi, Cystopus candidus influence Capsella quant au pigment, dans le même sens que les radiations solaires.

Abordons l'anatomie de la feuille. Des coupes transversales et tangentielles de cet organe non infecté présentent les particularités suivantes. Les épidermes supérieur et inférieur sont stomatifères; leurs cellules sont sinueuses lorsqu'on les considère de face. Le parenchyme chlorophyllien, palissadique à la face supérieure, a ses autres éléments arrondis. La nervure médiane possède, outre ses épidermes et son parenchyme chlorophyllien, une gaîne collenchymateuse à cellules épaissies et chlorophylliennes, enveloppant un faisceau dont le phloème est peu développé et dont le xylème est composé de vaisseaux entourés de cellules de parenchyme vert. Quelques éléments avec division tangentielle laissent supposer une région cambiale.

Une feuille fortement infectée et dont la face inférieure est couverte de pustules, se distingue par tous ses éléments gonflés et a diamètre de deux à trois fois plus large que normalement. L'épiderme supérieur, très hypertrophié, écrasé partout ailleurs que sur les grandes nervures, a ses cellules irrégulières, à parois non sinueuses. Le parenchyme se compose de grandes cellules arrondies,

avec méats remplis de mycelium; il ne reste plus trace de cellules à tendance palissadique. La chlorophylle y est en grains nombreux, irréguliers, verdâtres. L'épiderme inférieur, presque complétement soulevé par les conidiophores, est écrasé dans les espaces dépourvus de pustules; partout, il est hypertrophié et à parois cellulaires non sinueuses. Assez souvent, la première assise parenchymateuse inférieure, sous les pustules, montre une belle coloration rouge-violacée. Les vésicules ne se localisent pas toujours à la face inférieure de la feuille. Si l'on rencontre cet organe avec ses deux épidermes soulevés par les conidiophores, on est presque certain de trouver les cellules moyennes du parenchyme bourrées de grains d'amidon à réaction iodique très caractéristique, tandis que les deux assises respectivement en contact avec les deux épidermes, présentent la coloration violette au plancher des appareils sporifères. Le parasite introduit aussi certaines perturbations dans les nervures. Elles sont du même genre que celles décrites précédemment dans les faisceaux caulinaires. La gaîne collenchymateuse y est très hypertrophiée, à parois minces ou à peine épaissies dans les coins, à cellules contenant de la chlorophylle. Le phloème et le xylème ont leurs tubes et vaisseaux à diamètre légèrement exagéré. Les cellules parenchymateuses du bois sont ici fortement hypertrophiées et parfois avec chlorophylle. Ce qu'il y a de remarquable dans le faisceau, c'est la présence d'un cambium bien visible, mais peu actif, beaucoup plus apparent que dans la nervure normale. Dans son ensemble, le faisceau est généralement étiré en largeur, et l'on y remarque, comme dans la tige, des files radiales de cellules plus gonflées que les voisines, donnant un aspect déchiqueté à l'ensemble.

Si l'on passe à l'histologie de la fleur normale, le pédicelle participe de la nature caulinaire; il n'a pas de cambium interfasciculaire, mais possède une zone génératrice fasciculaire à peine marquée. Le calice présente deux épidermes stomatifères, une a trois assises de parenchyme chlorophyllien, et des faisceaux libéroligneux sans gaîne épaissie. Le pétale a ses épidermes papilleux, ses quelques assises de parenchyme avec des traces de chlorophylle, ses faisceaux semblables à ceux du calice. Le filet staminal comprend un épiderme, un parenchyme pauvre en chlorophylle, un faisceau central sans gaîne, se poursuivant jusque dans le connectif. L'anthère quadriloculaire a un épiderme recouvrant l'assise bien connue de cellules à épaississements spiralés. Quant au pistil et au jeune fruit (Fig. G), les épidermes interne et externe sont à cellules allongées, le parenchyme est riche en chlorophylle. Contre l'épiderme interne se voit une assise très régulière de cellules à parois minces, d'aspect palissadique en coupe transversale, mais qu'une coupe tangentielle montre sous forme de longues cellules fusiformes et allongées dans le sens de l'axe du fruit. Par abréviation, cette couche sera appelée dans la suite assise fibro-palissadique pour en rappeler les deux aspects. Un fruit de 6 à 10 mm dénote la même conformation; mais l'épiderme interne est écrasé contre l'assise fibro-palissadique qui s'est fortement

épaissie et lignifiée tout en gardant une élégante régularité. Les faisceaux libéro-ligneux du fruit partagent la structure de ceux de la feuille. Dans le style, on voit un épiderme enveloppant quelques assises vertes; puis à l'intérieur de celles-ci, deux arcs de parenchyme incolore reliés bout à bout et contenant des vaisseaux dispersés; enfin, occupant le centre de l'organe, le tissu conducteur des tubes polliniques composé de cellules à membranes épaissies et gélatineuses.

Adressons-nous à la fleur et au bouton monstrueux. Les anomalies caulinaires se retrouvent dans le pédicelle: hypertrophie de tous les éléments, amincissement de toutes les membranes épaissies, anneau cambial inter- et intrafasciculaire très actif et régulier. Les deux verticilles floraux externes ont tous leurs éléments hypertrophiés fortement. Les cellules épidermiques de la corolle restent papilleuses par places, surtout dans les endroits non virescents, tandis qu'ailleurs on les voit irrégulières et stomatifères; les faisceaux ont un cambium bien visible. Le filet des étamines ainsi que le connectif sont hypertrophiés; leur parenchyme est très vert et leur épiderme possède de nombreux stomates. L'anthère garde souvent ses loges polliniques; alors l'assise spiralée est persistante quoique un peu hypertrophiée. Certaines étamines très aberrantes montrent des loges fort anormales et à pollen écrasé; dans ce cas, les cellules à épaississements spiralés sont transformées en gros éléments chlorophylliens sans bandes spiraliformes.

Les curieux androcées que nous avons décrits en parlant de l'ensemble des organes floraux dénotent des aberrations plus intimes (Fig. J). L'assise spiralée est toujours complètement parenchymateuse et abondamment pourvue de chlorophylle. Les sacs polliniques, quand ils existent, sont très irréguliers, écrasés, à pollen très imparfait; souvent ils sont remplacés par du parenchyme chlorophyllien ou par des expansions stigmatiformes à cellules allongées dans le sens de l'appendice. Ces étamines contiennent des faisceaux nombreux et irrégulièrement dispersés (Fig. J, *f* et *f'*).

Etudions maintenant les pistils anormaux (Fig. H). L'épiderme externe comprend des cellules monstrueuses et irrégulières, avec de nombreux stomates. Le parenchyme a des éléments très hypertrophiés, contenant de la chlorophylle verdâtre. L'assise fibro-palissadique est composée de cellules gonflées, irrégulières et à parois minces. L'épidérme interne, complètement écrasé dans le fruit normal, est persistant et présente souvent, en plus de ses cellules gonflées, une active division et de nombreux stomates. Les faisceaux libéro-ligneux du fruit montrent les mêmes anomalies que ceux de la feuille: amincissement des cellules épaissies, étirement en largeur, cambium très actif; en outre il existe des faisceaux surnuméraires. Le style est aussi modifié par Cystopus. L'épiderme et le parenchyme vert de cet organe sont hypertrophiés. Les deux arcs ont leurs éléments anormaux et contiennent de nombreux vaisseaux disséminés par petits groupes dans un parenchyme présentant des cellules en division active. Les cellules du tissu conducteur sont toutes hypertrophiées, à parois minces et

non gélatineuses. Ajoutons que le parenchyme vert de tous les verticilles floraux nourrit un abondant mycélium, et que la coloration rouge-violacée s'y rencontre souvent dans la première assise sous-épidermique servant de substratum aux vésicules conidiales.

Pour achever notre étude de Capsella bursa, il nous reste à comparer plus intimément les anomalies dues à Cystopus et à Peronospora.

Des coupes dans les tiges très gonflées par Peronospora parasitica (Fig. D) montrent un épiderme (*ép*) peu irrégulier, se présentant sous forme d'un tissu cicatriciel écrasé et bruni aux endroits où les conidiophores émergent des stomates (*ép'*). L'écorce (*éc*) est hypertrophiée, mais généralement beaucoup moins que dans les tiges attaquées par Cystopus; ses cellules sont remplies par des paquets de haustories enchevêtrées. On remarque souvent l'assise corticale la plus profonde, plus rarement l'endoderme et le péricycle, être le siège d'une division tangentielle active, formant une zone génératrice dont les cellules qui en dérivent ressemblent aux éléments de l'écorce. Les fibres dorso-libéricennes ont fréquemment leurs parois amincies. Le phloème a ses éléments abondants, avec cambium fasciculaire très actif. Le xylème présente des vaisseaux irréguliers de diamètre un peu exagéré', des files de cellules parenchymateuses souvent disposées en éventail (*xy*), et dont certaines (*la*) s'hypertrophient plus encore que leurs voisines, se remplissent de haustories, et traversent parfois le faisceau du bois jusqu'au phloème. La gaîne interfasciculaire (*g*) est à éléments presque normaux; mais fréquemment, contre les faisceaux libéro-ligneux, les haustories s'insinuent dans les cellules et transforment localement la gaîne (*g'*) en grandes cellules à parois minces, présentant souvent des cloisons tangentielles. La moelle (*m*) occupe un volume plus considérable que dans les hypertrophies dues à Cystopus; elle est remplie de suçoirs et de hyphes; ses cellules sont très grosses et irrégulières. Des coupes dans un exemplaire de Capsella dont la tige était énorme, nous ont donné d'intéressants résultats. La partie inférieure de la tige, sans trace du parasite, montre un cambium interfasciculaire très actif se reliant à l'assise génératrice fasciculaire; ce cambium forme du liber et du bois qui se raccordent respectivement au phloème et au xylème des faisceaux primitifs, laissant en dedans la gaîne intacte. Une autre coupe en pleine partie gonflée ne montre aucune trace de cambium interfasciculaire.

Des coupes de feuilles très attaquées par Peronospora parasitica font voir que tout en présentant un gonflement, les cellules conservent l'aspect palissadique à la face supérieure, même lorsque les éléments sont remplis de haustories. Une comparaison entre les anomalies foliaires provoquées par Cystopus et celles dues à Peronospora fait bien saisir la diversité des processus hypertrophiques: les cellules contenant le premier de ces deux parasites sont irrégulières, arrondies, très gonflées, et sans aspect palissadique; les éléments dont les aberrations ont Peronospora pour origine, sont plus réguliers, moins gonflés, et conservent le parenchyme palissadique.

(Fortsetzung folgt.)

Ein neuer, verderblicher Schädling der Eiche.

Von Privatdozent Dr. **W. Ruhland,**
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamt.

[Vorläufige Mitteilung.]

Anfang Juni des vorigen Jahres ging der biologischen Abteilung des Kaiserl. Gesundheitsamtes aus Mecklenburg eine Anzahl von stark geschädigten bezw. nahezu eingegangenen Eichenheistern zu, welche dem Verf. zur Untersuchung überwiesen wurden. Nach dem beigefügten Berichte mußte es sich um einen dort verbreiteten, schweren Forstschaden handeln, dem man bereits seit 3 Jahren seine Aufmerksamkeit gewidmet hatte.

In der Rinde der erkrankten Zweig- und Stammteile machte sich ein Pilz bemerkbar, über den weiter unten Näheres folgen soll. Ganz entsprechende Beobachtungen machte im selben Frühjahr Herr Regierungsrat Dr. Appel an Eichen auf dem Dars (Fischland). Das von ihm von dort mitgebrachte Material zeigte denselben Schädling und ein völlig analoges Krankheitsbild. Schließlich konnte der Verf. den Pilz auch an verschiedenen Stellen der Umgegend von Berlin, in einer Baumschule, einer Eichenschonung und selbst auf dem Versuchsfelde der biologischen Abteilung in Dahlem überall an lebenden Bäumen auffinden und identifizieren. Es handelt sich also anscheinend um einen weit verbreiteten Schaden.

Waren in allen diesen Fällen meist nur jugendliche Eichen, von 2—3-jährigen Sämlingen herauf etwa bis zu 15—18-jährigen Heistern (ältere Bäume nur am 3—4-jährigen Holz) von dem Pilze befallen, so zeigte sich derselbe in Dahlem auch an dorthin verpflanzten älteren, bis über 3 m hohen, starken Exemplaren, und zwar an Eichen der verschiedensten Artzugehörigkeit. Der Pilz bildete hier geradezu eine Kalamität. Eine nahezu abgestorbene Rotbuche von 39 cm Stammumfang sowie eine Castanea americana waren, wie die Untersuchung lehrte, vom selben Pilze ergriffen.

Soviel an dieser Stelle über den allgemeinen Schaden. Die spezifischen Krankheitserscheinungen bestehen in einer gelbrötlichen bis braunen Verfärbung der Rinde, aus welcher die $^1/_4$—2 mm breiten, schwärzlich-grauen Pusteln des Pilzes hervorbrechen. Sehr häufig ist ein toter Zweigansatz als mutmaßliche Infektionsstelle deutlich erkennbar. Die vom Pilz ergriffene Zone, welche verschiedene Ausdehnung, häufig von 2—3 qcm zeigt, greift vielfach später rings um den Ast bezw. Stamm herum oder auf den Ueberwallungswulst über, womit dann das Schicksal der darüberliegenden Teile meist besiegelt ist. Da der Pilz sich nicht bloß rings um den Stamm, sondern auch weiter in der Lotrechten ausdehnt, so ist oft auch der untere Teil des Baumes verloren. Fehlen aber die allgemeinen Vorbedingungen zur Erkrankung, als welche wohl schon jetzt u. a. vornehmlich unzureichende Wasserzufuhr (infolge von

Verpflanzung auf zu durchlässigem Boden, bei geringer Niederschlagsmenge etc.) namhaft gemacht werden darf, so ist, wie der Erfolg einer großen Zahl von Impfungen und die weitere Beobachtung spontaner Infektionen lehrte, völlige Verheilung die Regel. Weitere Studien hierüber werden lehren, ob sich darauf forstlich durchführbare Schutz- und Abwehrmaßregeln aufbauen lassen werden. Für kleinere parkartige Betriebe und Baumschulen wird man jetzt schon die Entfernung aller kranken und über der Erkrankungsstelle liegenden Teile empfehlen können. Das Abschneiden hat sicherheitshalber 2—3 cm unterhalb der äußerlich kenntlichen Absterbezone zu erfolgen. Allerdings ist auch dann der Erfolg nicht völlig sicher, da das Mycel sich in der Richtung der Stammachse im Markkörper auszubreiten vermag und hier mitunter der äußerlich sichtbaren Wundzone vorauszueilen scheint. Die obere Schnittfläche ist natürlich in geeigneter Weise mit Holzteer, Baumwachs u. dgl. zu bestreichen.

Was den Erreger anbetrifft, so ist er von einer ganzen Reihe anderer auf der Eiche vorkommender Pilze (in der Konidienform) etwas schwierig zu unterscheiden. Seine genaue Untersuchung lehrte, daß er bisher nicht beschrieben ist. Er macht sich im Frühjahr (etwa April bis Anfang Juni) in Form der schon erwähnten kleinen Polsterchen bemerkbar. Diese erweisen sich auf dem Querschnitt als zusammengesetzte Pykniden, deren Hymenien alle Uebergänge von rings geschlossener Form zu völlig offenen Lagern zeigen. Die später absterbenden Pusteln entlassen zur angegebenen Jahreszeit eine breite, graue, schmierige Masse, die aus sehr charakteristischen, einzelligen, hyalinen Konidien besteht. Man könnte zweifelhaft sein betreffs einer Anzahl offenbar sehr nahe verwandter, bei der Unnatürlichkeit unseres Systems der Fungi imperfecti aber weit auseinandergerissener Gattungen, in welche von ihnen man den Pilz stellen solle, Zweifel, die sich namentlich aus der Vielgestaltigkeit der Hymenia ergeben. So würde zunächst im Falle ganz offener Lager an Melanostroma oder, da das Lager nicht eigentlich ganz schwarz ist, an Myxosporium etc. gedacht werden können. Bei den Gattungen mit vorwiegend geschlossenem Konidienlager würden unter anderem Dothiorella und Fusicoccum in Betracht zu ziehen sein. In keiner dieser Gattungen ist der Pilz bisher beschrieben. Am besten paßt er sowohl durch seine äußere Form als durch die seiner Konidien in die Gattung Fusicoccum, wo er dem F. quercinum Sacc. nahestehen würde. Sehr charakteristisch sind die 6—10 kleinen Tröpfchen im Innern der Konidien. Hieran und durch die Größenmaße ist sein sicheres Erkennen möglich.

An den erkrankten Eichen wurden stets nur diese Konidien gefunden. Von Anfang Sommer bis zum nächsten Frühjahr sind an diesen äußerlich von dem Pilz nichts weiter als die kleinen Rindenhöhlungen zu sehen, in welchen die inzwischen abgestorbenen Pilzwärzchen gesessen haben. Eine Ueberwinterungsform in der freien Natur aufzufinden, ist trotz sorgfältigen Suchens nicht gelungen Die Auffindung der zugehörigen Ascusform gelang aber bei der

weiteren Beobachtung abgestorbener Eichenzweige, welche seinerzeit als besonders stark infiziert vom Baume abgetrennt waren. Nachdem diese zum Teil in Wasser gestellt oder vorsichtig unter Vermeidung von Schimmelbildung feucht gelegt waren, wurden zunächst am 5. August vorigen Jahres auf einigen Quadratcentimetern der Rinde die langhalsigen Perithecien der, wie es scheint, bisher nur von Nitschke beobachteten Diaporthe insularis Nke. aufgefunden. Aussaaten der Askosporen (am 12. August) auf sterilisierten Eichenstücken ergaben aber am 22. September Pykniden, aus welchen gelbe blasse Ranken austraten, mit völlig anderen Konidien, die als Cytospora anzusprechen waren und mithin nicht in den Zeugungskreis unseres Schädlings gehören konnten. Dagegen bedeckten sich bald darauf (14. Oktober) im Oktober fast sämtliche Eichenstücke dicht mit den Stromaten einer Dothidea-Art, welche nach der Heranreifung ihrer Sporen als neu erkannt wurde. Sie unterscheidet sich von der bisher auf Eiche beschriebenen Dothidea rudis Karst et Har. (Journ. Bot. 1889. p. 206) durch die hyalinen und nicht gefärbten („fuligineis") Sporen, welche auch kaum halb so breit sind.

Schon nach Analogie der übrigen Arten war die Zusammengehörigkeit von Fusicoccum-Konidien zu einer Dothidea sehr wahrscheinlich. Dieselbe konnte in einem Falle aber auch experimentell nachgewiesen werden. Am 20. Oktober erfolgte die Aussaat der Askosporen unserer Dothidea auf einigen sterilisierten Eichenstücke und am 30. November konnten an einer der Infektionsstellen 2 Pykniden mit typischen Fusicoccum-Konidien wahrgenommen werden. Die übrigen Impfungen waren leider nicht von Erfolg begleitet.

Es folgt nunmehr eine kurze Diagnose des Pilzes. Ausführliches mit Abbildungen soll später an anderer Stelle folgen, wenn weitere allgemeine Beobachtungen vorliegen. Für Mitteilungen über das Auftreten dieser oder ähnlicher Eichenerkrankungen und Materialsendungen wäre der Verf. sehr dankbar.

Dothidea noxia Ruhl. n. sp.

Stromatibus per majorem partem innatis, per corticem fissum tuberculari-erumpentibus, aeque et densiuscule sparsis, non confluentibus, plerumque transverse oblongo-ellipticis vel suborbicularibus, vix emergentibus, peridermii fissuris ± tectis, atris, minutis ($^1/_2$—$^2/_3$, raro 1 mm latis); loculis (3—8) compluribus, ± periphericis, dense constipatis, parvis; ascis cylindraceo-subclavulatis, antice obtusatis, basi breviter attenuatis, 120—140 μ longis, 9—11,5 m latis; sporidiis oblique monostichis, rarissime subbiserialibus, fusoideo-oblongis, utrinque obtusatis vel obtusiusculis, 1 septatis, ad septum valde constrictis, utraque cellula binucleatis, hyalinis, 18,6—22 μ longis, $4^1/_2$—6 μ crassis.

Huc pertinet status conidiophorus:

Fusicoccum noxium Ruhl.

Stromatibus sparsis, conicis, subcutaneo-erumpentibus, griseo-

nigrescentibus, intus obsolete plurilocularibus et sordide pallidis, irregulariter apertis, hymeniis clausis vel ± apertis, muco carneo-albescente farctis; sporulis subellipsoideïs, obtusis, hyalinis, continuis, compluries (6—10) guttulatis, 12,4—15 μ longis, 4—5,5 μ latis.

Hab. in cortice vivo quercino nec non fagorum et castaneae. Germania borealis.

Ueber Frostblasen und Frostflecken an Blättern.

Von **H. Solereder**, Erlangen.

Mit 8 Figuren.

Vor 2 Jahren hat Sorauer (in der Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., Bd. XII, 1902, p. 44—47 u. Taf. II) über Frostblasen an Apfel- und Kirschbäumen berichtet. Im folgenden soll nun zunächst von einer ganz analogen Frostblasenbildung die Rede sein, welche nach den vorjährigen Frühlingsfrösten an den Aprikosenbäumen des hiesigen botanischen Gartens auftrat, und dann von einer ähnlichen Krankheitserscheinung, welche ich in den letzten Jahren an den Blättern der Buchspflanzen desselben Gartens beobachten konnte.

1. Die Frostblasen an den Blättern des Aprikosenbaums.

Am Ende des letzten Frühjahrs fielen mir auf der Unterseite der Blätter unserer Aprikosenbäume eigentümliche weiße Flecken auf. Die zu unterst am Sproß inserierten Blätter (*a*) zeigten die ganze untere Blattfläche gleichmäßig weiß marmoriert, wie dies Fig. 1 (nat. Gr.) darzustellen versucht, während die höheren Blätter (*b*), von welchen eines in der Fig. 2 (etwas verkleinert) abgebildet ist, nur streifenförmige, weißliche, dem Hauptnerven und den Seitennerven erster Ordnung folgende Flecken und die in mittlerer Stellung (zwischen den Blättern *a* und *b*) befindlichen Blätter Uebergangsformen zwischen den beiden Fleckentypen aufwiesen. Die zuletzt entwickelten obersten Blätter (*c*) der Sprosse besaßen dagegen diese Flecken nicht. Aus dem Gesagten folgt schon, daß die Flecken als eine schwache Frostwirkung zu deuten sind, zumal sich eine andere Krankheitsursache nicht auffinden ließ. Auf diese Weise erklärt sich auch die Verschiedenheit der Flecken an den Blättern *a* und *b* und den dazwischen gelegenen, sowie das Fehlen derselben an den obersten (*c*). Bei den untersten zu äußerst in der Knospe gelegenen Blättern wurde die Blattunterseite am meisten, bei den höheren in successiv geringerem Maß und schließlich nur in der Umgebung der Mittelrippe, bei den obersten gar nicht von der Frostwirkung betroffen. Beifügen will ich noch, daß die Flecken, auch die der gleichmäßig marmorierten Blätter, sich durchweg an stärkere Nerven anlehnen, also stets in Beziehung zur Nervatur stehen.

Im Verlauf des Sommers ließ sich weiter feststellen, daß die

gefleckten Blätter (*a* und *b*) hinter den obersten Blättern (*c*) beträchtlich im Flächenwachstum zurückblieben. Während die Spreite der Blätter *c* Durchmesser von etwa 10 und 9 cm erreichte, wiesen die Spreiten der Blätter *b* nur solche von 8 und 6 cm, meist geringere und die Spreiten der marmorierten Blätter *a* nur selten solche von 7 und 5 cm, meist viel geringere auf. Dadurch be-

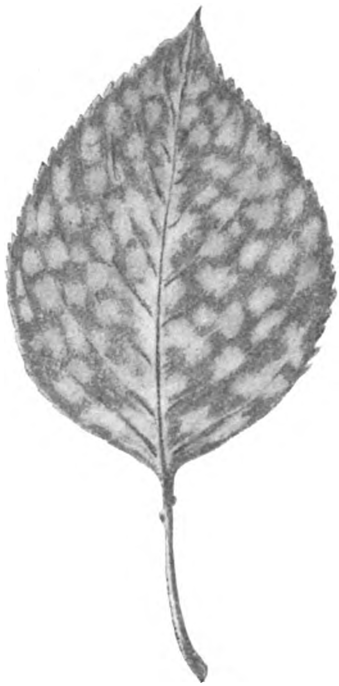


Fig. 1.



Fig. 2.

kamen die einjährigen Triebe ein charakteristisches Aussehen. Sie trugen von unten nach oben erst kleine, dann größere Blätter der Kategorie *a*; dann folgten mit Uebergängen die noch größeren der Kategorie *b* und endlich die normalen, ungefleckten und größten. Bei den nur an den großen Nerven mit Flecken versehenen Blättern (*b*), bei welchen verhältnismäßig kleine Teile des Blattes pathologisch verändert und in der Flächenentwickelung gehemmt waren, hatte das Flächenwachstum oft Krümmungen (Zwangsdrehungen) der Blattfläche zur Folge. Die gefleckten Blätter verblieben den ganzen, allerdings nicht trockenen Sommer hindurch am Baum[1]); Stärke wurde in ihnen reichlich gebildet. Die Flecken blieben fast durchweg weiß; nur sehr selten war eine Bräunung derselben zu sehen. Eine Schädigung der Bäume war höchstens insofern ge-

1) Die in Rede stehende Krankheitserscheinung traf ich noch im Herbste des letzten Jahres auch an Aprikosenbäumen des Würzburger Hofgartens an.

gegeben, als die gefleckten Blätter nicht die normale Größe erreichten und daher auch in ihrer Assimilationsarbeit zurückblieben.

Bevor ich auf die anatomischen Verhältnisse der schon als Frostblasen bezeichneten Flecken übergehe, muß, soweit nötig, die Anatomie des normalen Aprikosenblattes besprochen werden. Das Mesophyll desselben besitzt einen zentrischen Bau und besteht fast durchweg aus typischem Palisadengewebe. Unter der oberseitigen Epidermis befinden sich 2 bis 3 Lagen dichten Palisadenparenchyms, von denen namentlich die oberste lang- und schmalgliedrig ist. Die untere Mesophyllhälfte wird von etwas kürzeren und abgerundeten, doch deutlichen Palisadengewebezellen gebildet, welche größere, senkrecht zur Blattfläche gerichtete Intercellularräume zwischen sich haben; nur in der Umgebung des Mittelnerven ist das Palisadengewebe der unteren Blatthälfte weniger typisch ausgebildet, indem die Zellen kürzer und in verschiedener Richtung gelagert sind. Gleich dem Hauptnerven, dessen Begleitgewebe aus farblosem, zum Teil kollenchymatischem Parenchym besteht, sind auch die größeren Nerven durchgehende, indem sich an ihr Fibrovasalsystem nach oben und unten oder nur nach unten bis zur Epidermis weitlumiges, farbloses Parenchym anschließt. Die Spaltöffnungen befinden sich nur in der unterseitigen Epidermis.

Was nun die pathologischen Veränderungen anlangt, welche das Blattgewebe an den als Frostblasen hervortretenden Stellen erlitten hat, so sind sie dieselben wie bei den von Sorauer beschriebenen Frostblasen der Apfel- und Kirschbaumblätter. Zunächst hat sich, wie dort, die unterseitige Epidermis infolge der Frostwirkung von dem Mesophyll abgelöst; dabei sind die Epidermiszellen lebendig geblieben. Wie man sich die Abhebung der Epidermis zu erklären hat, ist schon von Sorauer in der zitierten Abhandlung ausführlich auseinandergesetzt worden. Des weiteren hatte auch hier „die Befreiung vom Epidermisdruck" eine ähnliche abnormale Gewebebildung, wie dort, zur Folge. Die Zellen des lockeren Palisadenparenchyms sowohl als auch die des unterseitigen Begleitparenchyms der Nerven zeigen zuerst eine Vergrößerung, auf welche sodann Zellteilung folgt, wodurch haarartige Zellreihen gebildet werden, welche bald in senkrechtem, bald in ganz unregelmäßigem Verlauf die unter der Frostblase befindliche Lücke durchsetzen, an der Epidermis angelangt, sich an diese anschmiegen und an derselben fortkriechen, zuweilen sich dann wieder nach innen wenden, oder auch stellenweise ein mehr oder weniger dichtes, großzelliges Gewebe bilden. Da, wo eine Zerreißung der Epidermis stattgefunden hat, was übrigens selten vorkommt, haben sich die Endzellen von zahlreichen solchen haarartigen Gebilden zuweilen unter Querteilung fest miteinander verbunden. Besonders auffallend sind noch eigentümliche zentrifugale, tropfen- oder stäbchenförmige Unebenheiten der Zellwand, die namentlich an den Enden der haarartigen Zellreihen häufig vorkommen und deutliche Cuticulareaktion geben. Solche Cuticularknötchen hat Sorauer auch an den schlauchartig ausgezogenen Parenchymzellen der Kirsch-

baumfrostblasen angetroffen [1]). Das in Rede stehende pathologisch veränderte Gewebe enthält mitunter Chlorophyll und Stärke und ist mit ziemlich dicken Wandungen versehen. Mit seiner Entwickelung steht augenscheinlich das Zurückbleiben der Blattgröße in Zusammenhang.

2. Die Frostflecken des Buchsbaums.

In dem zweiten Teil der vorliegenden Mitteilung bespreche ich nun eine Fleckenbildung an den Blättern des Buchsbaumes, welche ich zuerst im Jahre 1901 nach den Frühlingsfrösten auftreten sah und welche ich ebenfalls als eine Folgewirkung des Frostes betrachten muß. Ich weiß dabei sehr wohl, daß die Blätter der Buchspflanze durch ihre Struktur in ausgezeichneter Weise gegen die Kältewirkung geschützt sind, wie bekanntlich wiederholt, nämlich von Areschoug (Einfluß des Klimas etc., in Engler, Jahrb. Bd. II, 1882, p. 518), Lalanne (Caractères anat. des feuilles persist. etc., in Revue scientifique, T. XLVI, 1890, p. 210—213), Dufour (Notes microchim. sur le tissu épiderm., in Bull. Soc. Vaud. Sc. nat., T. XXII, 1886, p. 94) und Schimper (Schutzmittel des Laubes, in Sitz.-Ber. d. Berl. Akad. 1890, p. 1060) dargelegt worden ist.

Die Fleckenbildung fand sich nur bei der Strauchform, nicht bei der Zwergform, mit der viele Beete des Gartens eingefaßt sind. Die vom Frost betroffenen Blätter zeigen auf ihrer Unterseite meist einen länglichen, den Mittelnerv in der Mitte und Längsrichtung einschließenden weißen oder grauen, braungeränderten Fleck, welcher zunächst von dem an dieser Stelle ganz oder größtenteils getöteten und mehr oder weniger zusammengetrockneten Gewebe der unteren Mesophyllhälfte gebildet wird (Fig. 3, Vergr. ca. 2,5:1). Die letztere ist, wie gleich bemerkt werden muß und wie bereits Baillon (Monographie des Buxacées et des Stylocérées, Paris, 1859) und Van Tieghem (Sur les Buxacées, in Ann. des sc. nat., Sér. 8, T. V, 1897, p. 305) [2]) erwähnt haben, schon im gesunden Buchsblatt von der oberen Mesophyllhälfte abgelöst. Infolge davon tritt auch hier unter dem Frostfleck eine eigentümliche Neubildung von

1) Sie sind weiter beobachtet: an den haarartigen Gebilden der mit Frostflecken oder Monarthopalpus-Gallen versehenen Blätter der Buchspflanze (s. die zweite Mitteilung); an den bekannten Wollstreifen des Apfelkernhauses (s. Sorauer, Handbuch d. Pflanzenkrankh., Bd. I, 1886, p. 295—296 u. Fig. 17); an den inneren einzelligen und einzellreihigen Haaren, welche in den Luftkanälen verwundeter Nymphaea-Blattstiele auftreten (Mellink, in Bot. Zeit. 1886, p. 745—752 u. Taf. VI); an den den Gallenhohlraum umschließenden Mesophyllzellen der Birnblattgallen von Phytoptus Pyri und der durch einen Nematoden verursachten Blattgallen von Agrostis canina (Noack, in Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch., Bd. X, 1892, p. 651 u. Taf. XXXIII); am „Hautgewebe" des Callus der Pappel- (Küster, Pathologische Pflanzenanatomie, 1903, p. 166) und auch der Weidenstecklinge.

2) S. auch Crié, Des rapports, qui existent entre la structure des feuilles du Buxus et l'évolution des tâches du Depazea buxicola, in Bull. Soc. Linn. de Normandie, Sér. 2, T. VII (Ref. in Bull. de la Soc. bot. de France 1876, p. 56), wo angeführt ist, daß sich der Pilz wegen der Spaltung des Blattes nur am Blattrande entwickeln kann.

Gewebe in Form von haarartigen Gebilden auf, welche schließlich an der Stelle des Frostfleckes die abgelöste untere Blatthälfte mit der oberen verbinden.



Fig. 3.

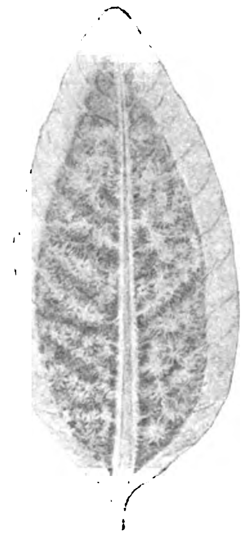


Fig. 4.

Bevor von der genaueren Struktur der Frostflecke die Rede sein kann, ist es notwendig, sich mit dem anatomischen Bau des Buchsblattes bekannt zu machen.

Das Buchsblatt ist bifacial gebaut (s. Fig. 5, Vergr. ca. 90:1). Unter der mit einer dicken und cutinisierten Außenwand versehenen und spaltöffnungslosen oberseitigen Epidermis befindet sich ein drei- bis vierschichtiges kurzgliederiges Palisadengewebe, welches nach unten in ein ebenso reichschichtiges, aus annähernd rundlichen, doch ziemlich fest in einander gefügten Zellen bestehendes Gewebe (im folgenden kurz als „rundlich-zelliges Assimilationsgewebe“ bezeichnet) übergeht. Auf das letztere folgt das lückige mehrschichtige Schwammgewebe, dessen Zellen mit wenigen, vornehmlich parallel zur Blattfläche entwickelten längeren Armen versehen sind; dasselbe besitzt die größten Intercellularen in direktem Anschluß an das rundlich-zellige Assimilationsgewebe, während gegen die unterseitige Epidermis zu die Lakunen kleiner sind und die Zellen der untersten Schwammgewebeschicht ziemlich fest aneinander schließen. Der Mittelnerv enthält ein kräftig entwickeltes Holzbastbündel, welches ober- und unterseits von einem Sklerenchymbogen gestützt wird. Ebenso verhalten sich rücksichtlich des Sklerenchyms die Seitennerven erster Ordnung, wenigstens an ihrer Basis, während die kleineren Nerven entsprechend ihrer Abstufung Sklerenchym nur auf der Holzseite oder überhaupt kein Sklerenchym besitzen. Bemerkenswert ist, daß sich an den Bastteil der Nerven, bezw. an das den Weichbast begleitende Sklerenchym nach unten eine besondere Parenchymzellschicht aus ziemlich starkwandigen Zellen (im folgenden „Parenchymbelag“ genannt) anschließt, welche als deutlich hervortretender Teil einer sogenannten Parenchymscheide angesehen werden kann. Die Leitbündel der sämtlichen Nerven, mit Ausnahme des Mittelnerven und des unten noch näher zu berücksichtigenden Randnerven, sind in der oberen, aus dem Palisadengewebe und dem rundlich-zelligen Assimilationsgewebe bestehenden Mesophyllhälfte eingebettet und grenzen mit dem vorhin erwähnten Parenchymbelag an das mit

größeren Intercellularen beginnende Schwammgewebe an. Rücksichtlich des Mittelnerven findet sich insofern eine Verschiedenheit, als über dem Leitbündel desselben nur eine bis zwei deutliche Palisadenzellenschichten und außerdem nur rundliche Parenchymzellen liegen und als in entsprechender Weise unterseits das Schwammgewebe zurücktritt, indem der Querschnitt dort fast ausschließlich rundliche Zellen mit kleinen Intercellularen und nur in Berührung mit dem Parenchymbelag eine schwammgewebeartige Zellschicht mit größeren Intercellularen zeigt [1]).

Entsprechend der beschriebenen Struktur tritt bereits an dem noch nicht völlig ausgewachsenen Blatt zwischen der untersten Schicht des rundlich-zelligen Assimilationsgewebes bezw. dem Parenchymbelag der Nerven einerseits und der obersten besonders großlückigen Schwammgewebeschicht andererseits die Spaltung des Blattes in zwei Hälften ein, von welchen sohin die obere aus der oberseitigen Epidermis, dem Palisadengewebe, dem rundlich-lumigen Assimilationsgewebe und den Nervenleitbündeln mit ihrem Parenchymbelag besteht, die untere aus dem Schwammgewebe, bezw. dem entsprechenden Gewebe des Mittelnerven und aus der unterseitigen Epidermis. Daß die beiden Hälften am Blattrand fest in Verbindung bleiben, erklärt sich damit, daß die Intercellularen gegen den Blattrand zu successiv kleiner sind und ein mit kräftigem und seitlich gelagertem Sklerenchymkomplex versehener Randnerv entwickelt ist.

Ich gehe nun zur Besprechung der näheren Struktur der Frostflecken über. Das Gewebe der Frostflecken wird von dem Schwammgewebe und der unterseitigen Epidermis gebildet. Die Zellen beider Gewebe sind in der Regel getötet, wie schon die Beschaffenheit der Inhaltsstoffe und auch Reaktionen mit Jodjodkalium oder 10-proz. Salpeterlösung zeigen. Unter dem Frostfleck tritt die bereits obenerwähnte Gewebewucherung in Form einer inneren Haarentwickelung auf. Namentlich sind es die Zellen des Parenchymbelags der Nervenleitbündel, welche haarartig auswachsen, sich dann der Quere nach teilen und häufig in der verschiedensten Weise verzweigen. Die Haare wachsen mit Hauptstamm und Zweigen entweder annähernd senkrecht oder schief zur Blattfläche

---

1) Zur Ergänzung bezw. Berichtigung der in meiner Syst. Anat. d. Dikotylen, p. 856—857 gemachten Angaben über die Blattstruktur von Buxus sempervirens sei hier beigefügt, daß oxalsaurer Kalk, Sekretzellen und Trichome vorkommen. Der oxalsaure Kalk findet sich nicht häufig in Form von gewöhnlichen Einzelkrystallen (so in Begleitung des Nervensklerenchyms) und drusenähnlichen Gebilden (so im oberseitigen Assimilationsgewebe, s. hierüber auch Van Tieghem, l. c.), aber reichlich in Form eines besonderen Krystallsandes (so namentlich unter den Leitbündeln der Nerven, und zwar in der subepidermalen Zellschicht oder etwas tiefer im Blattgewebe). Die Krystallsandzellen, welche mit zahlreichen, größeren, prismatischen oder unregelmäßig gestalteten und korrodiert aussehenden (nicht tetraëdrischen) Krystallen erfüllt sind, bewirken die weißen Pünktchen, welche schon mit freiem Auge auf der Unterseite des Blattes längs des Mittelnerven zu sehen sind. Die Sekretzellen entsprechen denen der Buxaceen-Gattung Simmondsia und finden sich im oberseitigen Assimilationsgewebe, wie im Schwammgewebe. Sie zeichnen sich vor den übrigen Gewebezellen durch ihr größeres Volumen und ihren Inhalt aus; ihre Wandung ist nicht verkorkt. In der oberen Hälfte des Mesophylls haben sie eine etwas abgerundete Form, aber dabei doch eine palisadenzellenartige Streckung und liegen zuweilen zu zweien nebeneinander; in der ersten Palisadengewebeschicht fehlen sie stets. Im Schwammgewebe weichen sie von den anderen Gewebezellen durch geringere Ausbildung der Arme ab. Ihr Inhalt ist in der lebenden Pflanze hell und stark lichtbrechend, in Alkohol und Wasser unlöslich; mit Jodlösung färbt er sich tiefbraun; mit Javellescher Lauge nimmt er erst eine braune Färbung an und löst sich dann zum Teil. Die Trichome sind, wie schon Van Tieghem (l. c.) angegeben hat, unverzweigt, dickwandig und durch eine oder mehrere Querwände geteilt.

oder aber häufig auch auf ziemlich weite Strecken nahezu parallel derselben. Unsere Fig. 7 zeigt die Entwickelung der Haare an dem Parenchymbelag eines Seitennerven, welche übrigens auch in Fig. 5 zu sehen ist; Fig. 6 verzweigte Schläuche der Mittelrippe, welche seitlich in die Lücke der Blattspreite hineingewachsen waren; Fig. 5[1]) einen Blattquerschnitt mit zahlreichen verzweigten, senkrecht zur Blattfläche verlaufenden Haaren. In den meisten Fällen dringen bei der weiteren Entwickelung der Haargebilde Zweige derselben in die Intercellularen des Schwammgewebes ein und verbinden auf diese Weise schließlich das Häutchen des Frostfleckes mit dem lebenden Gewebe der oberen Blatthälfte. Eigen-

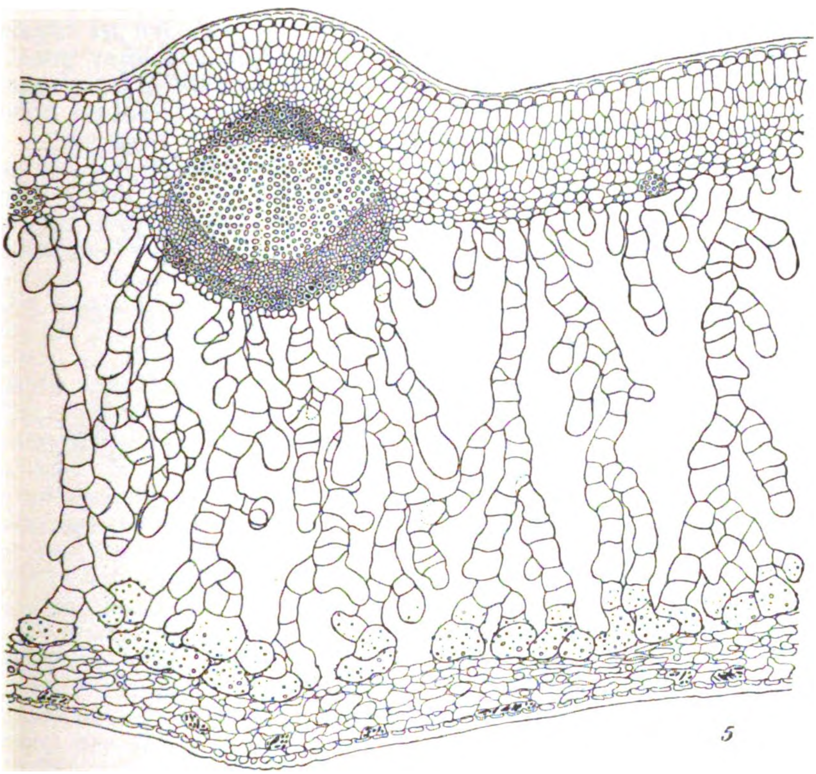


Fig. 5.

tümliche Gewebekomplexe (s. Fig. 8: Stück eines Querschnittes durch den unteren Teil des Mittelnerven) trifft man zuweilen in der Mittelrippe an. Dieselben werden von Haarschläuchen gebildet, welche am Parenchymbelag entspringen und senkrecht gegen die untere Blattfläche vordringen; sie kommen dadurch zu stande, daß die Enden der Haaräste sich aneinanderlegen und mit-

1) Der in Fig. 5 dargestellte Fall wurde abgebildet, weil hier die Verzweigung der Haarkörper am schönsten zu sehen ist.

einander verwachsen und zugleich Querteilungen in den Endzellen stattfinden. Aehnliche abnormale Gewebepartieen kommen stellenweise auch direkt an der unterseitigen Epidermis der Spreite vor; an ihrer Bildung nehmen weniger die Aeste von Haarschläuchen der oberen Mesophyllhälfte, welche das Schwammgewebe durchsetzt haben, teil, als vielmehr lebendig gebliebene Zellen der unteren Mesophyllhälfte (Epidermis- und Schwammgewebezellen). Am braungefärbten Rande der Frostflecken entwickeln sich schließlich auch aus Zellen der obersten oder einer tieferen Schwammgewebeschicht haarartige Gebilde, welche in senkrechter Richtung zum Rand des Frostfleckes und parallel zur Blattfläche gegen die Mittelrippe verlaufen.

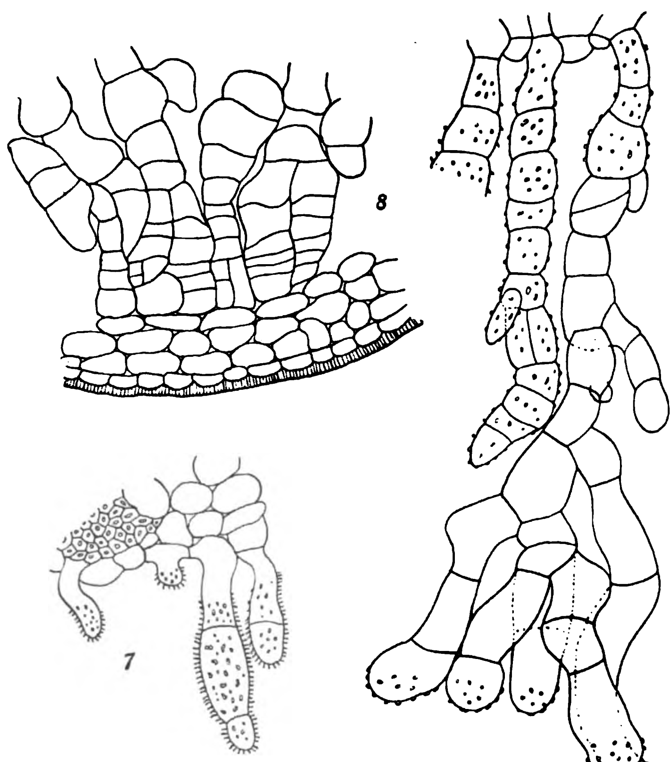


Fig. 6—8.

Die in Rede stehenden haarartigen Gebilde lassen sich schon in ihren Anfangsstadien mit freiem Auge auf der Innenfläche der oberen Mesophyllhälfte nach Wegnahme des Frostfleckhäutchens erkennen. Man sieht dann auch, daß dieselben von den Nerven ihren Ausgang nehmen. Später, wenn die haarartigen Schläuche die Verbindung der beiden Mesophyllhälften hergestellt haben, tritt ein Haarfilz von verschiedenem Aussehen auf der Innenseite der

gewaltsam abgelösten unteren Blatthälfte dem freien Auge entgegen (s. Fig. 4, Vergr. ca. 2.5:1). In Fig. 4 erkennen wir insbesondere die vom Parenchymbelag der Seitennerven erster Ordnung und auch des Mittelnerven ausstrahlenden Haargebilde, welche nahe ihrer Basis durch die Ablösung der unteren Blatthälfte abgerissen wurden, parallel zur Blattfläche sich hinziehen und dann mit ihren Zweigen in das Intercellularsystem des Schwammgewebes eindringen. Häufig sieht man auch die am Rande des Frostfleckes aus Schwammgewebezellen hervorgegangenen oben besprochenen Schläuche.

Die Zellen der haarartigen Gebilde sind mehr oder weniger kurz. Sie enthalten wenig oder kein Chlorophyll, einen ziemlich großen Zellkern und manchmal auch Stärke. Die Wand der Haarkörper ist mit einer dünnen, körnig bis warzen- oder stäbchenförmig verdickten Cuticula versehen. Letztere tritt nach Behandlung mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure gegenüber der Cellulosemembran deutlich hervor[1]).

Die im Vorausgehenden besprochenen Haargebilde lassen sich an den Buchsblättern auf experimentellem Wege hervorrufen, wenn man einen Teil der sich leicht ablösenden unteren Blatthälfte wegnimmt und die zum Versuch benutzten Buchspflanzen der Zwergform im Feuchtraum hält. Es tritt dann schon nach 1—2 Tagen an den verletzten jungen wie alten Blättern die Haarbildung auf. Die haarartigen Schläuche haben im großen ganzen die Struktur der in den Frostflecken entwickelten Haare und besitzen zum Teil auch die Cuticularwarzen. Nur enthalten sie reichlicher Chlorophyll, bestehen aus einer geringeren Zahl von Zellen, die dafür mehr gestreckt sind, und sind oft unverzweigt. Sie entwickeln sich namentlich aus den Zellen des Parenchymbelags der Nervenleitbündel, an den Rändern der Wunde aber auch aus typischen Schwammgewebezellen. Das Auswachsen von Zellen des Schwammgewebes zu den haarartigen Schläuchen zeigen auch einfache Versuche, bei welchen ein Stück der unteren Blattfläche so abgelöst wird, daß es noch in Verbindung mit dem Blatt bleibt; an dem abgelösten Stück ist nach kurzer Zeit die Schlauchbildung aus der subepidermalen Zellschicht und aus typischen Schwammgewebezellen zu beobachten. Die Schläuche der ersteren durchsetzen hierbei die Lufträume des Schwammgewebes und sind nicht selten auch verzweigt. Durch einen anderen Versuch kann die Entwickelung der Haare aus der untersten Zellschicht der oberen Blatthälfte und das Eindringen derselben in die Intercellularen des Schwammgewebes, ähnlich wie in den mit Frostflecken versehenen Blättern veranlaßt werden. Man braucht hierzu nur durch einen dünnen Flächenschnitt die unterseitige Epidermis und die ein bis zwei darüberliegenden untersten Schwammgewebeschichten an den Blättern wegzunehmen. Eine schwache Schlauchentwickelung aus dem Begleitparenchym der Nerven wird auch erzielt, nachdem

1) Daran anschließend, sei hier mitgeteilt, daß ich ganz ähnliche Haarbildungen, deren Wände ebenfalls mit den warzen- oder tropfenartigen Unebenheiten versehen sind, neben anderen pathologischen Gewebeveränderungen auch in Buchsblattgallen (aus der Erzherzog-Heinrich-Anlage in Bozen) antraf, welche durch Monarthopalpus buxi Laboulb. verursacht werden.

man die untere Blatthälfte oder einen Teil derselben durch Bepinseln mit einer 0,5—1-proz. alkoholischen Sublimatlösung getötet hat. Dagegen wurde in unverletzten Buchsblättern die Haarbildung nie beobachtet, auch nicht bei Pflanzen, welche längere Zeit in feuchter Luft kultiviert wurden und ebenso nicht bei Pflanzen, deren Blätter zum Teil behufs Herabsetzung der Transpiration auf ihrer Unterseite mit Paraffin überzogen wurden und dann einige Wochen im Kalt- oder Warmhaus standen.

Was schließlich die Ursache der Haarentwickelung in den Frostflecken anlangt, so sehe ich in der letzteren im wesentlichen nur eine Reaktion, um das lebendige Gewebe von dem getöteten abzuschließen, also eine dem Wundkork und Callus entsprechende Gewebebildung. Die haarartige Ausbildung des Gewebes hängt damit zusammen, daß die an das abgehobene getötete Häutchen angrenzenden Zellen wegen der vorhandenen Lücke sozusagen einzeln reagieren können und durch das Häutchen vor Vertrocknung geschützt sind.

Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis.**

Mit 5 Tafeln.

Bei dem gegenwärtigen Stande der Bodenbakteriologie erscheint es von Wichtigkeit, daß über jene Methoden Klarheit geschaffen wird, die bei dem Studium der im Acker sich abspielenden Bakterientätigkeit Berücksichtigung verdienen. Vor einiger Zeit sind von Hiltner[1]), sowie von Thiele[2]) Mitteilungen über die bei bakteriologischen Bodenuntersuchungen innezuhaltende Methode veröffentlicht worden. In beiden Arbeiten sind die einschlägigen früheren Veröffentlichungen zur Besprechung gelangt, so daß ein nochmaliges Eingehen auf diesen Gegenstand für überflüssig erachtet wird. Im übrigen hat sich Hiltner vorwiegend, Thiele ausschließlich mit der Erörterung derjenigen Maßnahmen beschäftigt, welche bei der Ermittelung der Zahl der auf Gelatine wachsenden Bodenbakterien nach Ansicht der genannten Autoren beachtet werden müssen.

Es ist nicht meine Absicht, in dieser Richtung neue Vorschläge zu machen, da, wie aus früheren, so auch aus den beiden zitierten Arbeiten mit hinreichender Deutlichkeit hervorgeht, daß zwar der Einfluß, den leicht zersetzliche organische Substanzen oder stark wirkende Gifte nach ihrer Einverleibung in den Boden auf die darin lebenden Mikroorganismen ausüben, wie auch die

---

1) Hiltner, Arb. a. d. biol. Abt. d. kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. 1903. Heft 5.

2) Thiele, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 252.

Wirkungen von Temperatur, Feuchtigkeit und Durchlüftung des Bodens zuweilen recht gut an dem Schwanken der für die gelatinewüchsigen Bakterien ermittelten Zahlen verfolgt werden können, daß aber andererseits sichere Anhaltspunkte hinsichtlich der Fruchtbarkeit des betreffenden Bodens auf diesem Wege nicht zu erlangen sind, vielmehr nur in Bezug auf den Abbau hochorganisierter stickstoffhaltiger Verbindungen, sowie etwa noch betreffs der Zersetzung des Strohes einigermaßen zutreffende Schlußfolgerungen gezogen werden können. Man muß Conn[1]) vom Standpunkte des landwirtschaftlichen Bakteriologen aus im allgemeinen — abgesehen von seiner nicht zutreffenden Behauptung hinsichtlich der Arten — recht geben, wenn er sagt: „Our interest in soil organisms comes not from their number or species, but from their functions. The agriculturist's concern in them is wholly centered around the question of what they are doing in the soil. The fact that the soil is full of living bacteria, ready to grow and multiply if proper conditions are furnished, is the only fact we need to notice concerning their distribution. To the activities of these organisms in modifying the constituents of the soil, we must therefore turn our whole attention."

Es ist Remys Verdienst[2]), einen Anfang damit gemacht zu haben, verschiedene Böden in Bezug auf die sich darin abspielenden, landwirtschaftlich wichtigen Umsetzungen einer vergleichenden Untersuchung zu unterwerfen. Wenn auch die von ihm angewandte Methode in einigen Punkten verbesserungsbedürftig und -fähig ist — soll doch nach seinen eigenen Angaben seinen bisher veröffentlichten Untersuchungen „in erster Linie orientierender Charakter zukommen" [3]) — so ist doch durch das von ihm innegehaltene Verfahren die Möglichkeit gegeben, nicht nur für verschiedene Böden, sondern auch (unter Benutzung einiger weiterhin zu besprechenden Abänderungen) für ein und denselben Boden die bei verschiedener Bearbeitung desselben auftretenden agrikulturbakteriologisch wichtigen Unterschiede genau verfolgen zu können, wofür ich in einer späteren Veröffentlichung den ausführlichen Nachweis erbringen werde. In der vorliegenden Abhandlung werde ich mich auf wenige jener Arbeit entnommene Angaben beschränken; im übrigen erachte ich es zunächst als meine Aufgabe, die Zuverlässigkeit der Remyschen Methode, so wie ich dieselbe bei meinen Untersuchungen zur Anwendung bringe, nachzuweisen, da dieselbe von Hiltner[4]) als „bedenklich" bezeichnet worden ist.

Remy[5]) impft eine für die in Frage kommende Umsetzung (Eiweißzersetzung, Nitrifikation, Denitrifikation) besonders geeignete Lösung mit einer größeren Bodenmenge (10 g Erde auf 100 ccm Lösung bezw. 5 g auf 50 ccm). Als ich meine Arbeiten über diesen Gegenstand in Angriff nahm, hielt ich zunächst diese Impfungen für unnötig reichlich bemessen. Vorversuche, bei denen ich

1) Conn, Agricultural bacteriology. 1902. p. 56.
2) Remy, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 657.
3) l. c. p. 731.
4) l. c. p. 476.
5) l. c. p. 660 ff.

kleinere Impfmengen ($^1/_2$—2 g Erde auf 100 ccm) mit den von Remy empfohlenen Quantitäten in Vergleich setzte, zeigten mir sehr bald durch das mangelhaftere Uebereinstimmen der Parallelversuche bei Verwendung kleinerer Impfmengen, daß es nicht zweckmäßig ist, weniger als 10 g Erde auf 100 ccm Lösung (bezw. 5 g auf 50 ccm) in Anwendung zu bringen.

Hiltners Methode[1]) besteht dagegen darin, „daß man eine Nährlösung, die vorherrschend den Stoff enthält, an dem sich die spezifische Funktion betätigen soll, mit fortschreitenden Verdünnungen eines zu prüfenden Bakteriengemisches beimpft, und prüft, in welcher niedrigsten Verdünnung sich die spezifische Betätigung eines Organismus noch zeigt“. Als passende Erdmengen empfiehlt er 1000—100—10—1—0,1—0,01—0,001 mg, womit je ein die betreffende Lösung enthaltendes Reagenzglas zu beimpfen ist. Der genannte Autor empfiehlt sein Verfahren vor allem aus dem Grunde, weil nach seinen Erfahrungen bei Verwendung großer Erdmengen sehr leicht eine Ueberwucherung derjenigen Organismen, die an der betreffenden Umsetzung beteiligt sind, durch andere, rascher wachsende Bakterien eintreten kann. Außerdem sei ein besonderer Vorteil dieses Verfahrens darin zu erblicken, daß es auf diese Weise ermöglicht wird, „die betreffenden Organismen näherungsweise zu zählen, auch wenn sie nicht auf einem festen Nährboden wachsen“.

Was zunächst den zuletzt angeführten Punkt anlangt, so kann ich dem genannten Autor in Bezug auf die Zweckmäßigkeit des durch Anwendung der Verdünnungsmethode möglich gemachten Zählens der an der betreffenden Umsetzung beteiligten Mikroorganismen aus folgenden Gründen nicht beipflichten. Seit Marchal[2]) seine Untersuchungen über die im Boden vorkommenden Ammoniakbildner veröffentlichte, sind die Agrikulturbakteriologen darauf aufmerksam geworden, wie verschieden die Fähigkeit der in gleicher Richtung im Boden tätigen Bakterienarten bemessen sein kann, ja wie sogar innerhalb ein und derselben Art bedeutende Qualitätsunterschiede vorkommen können. In Bezug auf das Vermögen, aus Eiweiß Ammoniak abzuspalten, wurde dies von Marchal für einige Mycoides-Stämme mit Sicherheit nachgewiesen. Uebrigens beruhen ja auch Hiltners neuere Erfolge bei der Leguminosenimpfung gerade auf der Berücksichtigung der differenten Wirksamkeit ein und derselben Bakterienart.

Da nun, soviel bis jetzt bekannt, an jeder wichtigen Umsetzung im Boden eine größere oder kleinere Zahl verschiedener Bakterienarten beteiligt ist, so würde notwendigerweise auch in diesem Falle das Zählen sehr leicht zu irrtümlichen Schlüssen Veranlassung geben können. Es ist doch, um einen bestimmten Fall anzunehmen, möglich, daß die etwa in 1 g des einen Bodens vorhandenen 2 Millionen sehr wirksamer Ammoniakbildner eventuell eine viel größere Wirkung ausüben, als die in 1 g eines

1) l. c. p. 474.

2) Marchal, Agric. science. T. VIII. 1894. p. 574. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 753.

anderen Bodens sich vorfindenden 5 Millionen Bakterien, die zwar zur gleichen physiologischen Gruppe gehören, aber nur eine relativ schwache Tätigkeit entfalten. Auf den wichtigen Umstand der differenten Qualität der zu einer bestimmten Gruppe gehörenden Bodenbakterien weist auch Remy[1]) in seiner Arbeit hin.

Was nun die oben erwähnte, nach Hiltner bei der Verwendung relativ großer Impfmengen zu befürchtende Gefahr des Ueberwuchertwerdens der an der betreffenden Umsetzung beteiligten Bakterien durch andere, schneller wachsende Arten anlangt, so scheint der genannte Autor zu dieser Ansicht durch folgenden Versuch[2]) geführt worden zu sein. Er impfte am 4. Dezember 1901 Salpeterbouillon (Fleischbrühe mit Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,3 Proz. Salpeter), die in Reagenzgläsern portioniert war, mit 3,0—0,75—0,15—0,075 - 0,015—0,0075 mg Erde. Das Resultat war folgendes, wobei + Gärung, ++ lebhafte Schaumbildung und — keine Gärung bedeutet:

rwen- ron:	am 7. Dez.	9. Dez.	11. Dez.	14. Dez.	20. Dez.	3. Januar
mg	—	—	—	—	++	Salpeter verschwunden
„	+	+	++	Salpeter verschwunden		
„	—	—	—	—	—	Salpeter noch vorhanden
„	—	+	++	+	Salpeter verschwunden	
„	—	++	Salpeter verschwunden			
„	—	—	—	—	—	Salpeter noch vorhanden

Das Verhalten der mit 3,0 bezw. 0,15 mg beimpften Lösungen soll als Beweis dafür dienen, daß in diesen Fällen durch die üppige Entwickelung anderer Bakterienarten die Denitrifikanten in ihrer Tätigkeit gehemmt oder überhaupt völlig daran verhindert wurden, während das Ausbleiben der Salpeterzersetzung in dem mit 0,0075 mg Erde beimpften Glase auf die in einer so geringen Bodenmenge leicht mögliche Abwesenheit eines denitrifizierenden Organismus zurückgeführt wird.

Die nicht unbedeutende Unregelmäßigkeit der Versuchsresultate, wie sie ein Blick auf die oben wiedergegebene Tabelle ohne weiteres hervortreten läßt, und die sich wohl aus dem Umstande erklärt, daß, wie es scheint, die Ergebnisse nicht durch Parallelversuche kontrolliert wurden, veranlaßte mich, den Versuch in ähnlicher Weise in 4 Parallelreihen durchzuführen. Ich impfte Salpeterbouillon, wie sie von Hiltner benutzt wurde, mit 1000—500—100—10—1—0,1—0,01 mg Erde, die einem zum Universitätsgut Oberholz gehörenden Ackerstück aus 10 cm Tiefe entnommen war. Das in Tabelle I niedergelegte Versuchsergebnis bestätigte in viel eklatanterer Weise als das oben zitierte Resultat die Hiltnersche Behauptung; bei Verwendung der stärkeren Impfmengen trat überall Ueberwucherung ein, nur bei Verwendung der geringsten Menge (0,01 mg) Erde verlief die Salpeterzersetzung in normaler Weise, abgesehen von dem Glas 7d, in das jedenfalls kein denitrifizierender Keim gelangt war, da, wie aus einem

1) l. c. p. 659.
2) l. c. p. 475 f.

weiterhin anzuführenden Versuche hervorgeht, für den zu vorliegenden Untersuchungen benutzten Boden bei Verwendung von 0,01 mg Erde die untere Grenze erreicht ist, innerhalb deren denitrifizierende Organismen anzutreffen sind.

I. Denitrifikationsversuch
mit Salpeterbouillon. — Beginn: 7. Februar 1904.

Vers.-No.	Impfmenge mg	Parallele	Verlauf des Versuches	Diphenylaminreaktion am Schluß (7. März) negativ	stark
1	1000	a—d	Deckenbildung beginnt am 11. Februar. Zwischen 11. und 17. Februar sind außer in 4a, 5a, 6a, e und d überall unter der stärker werdenden Decke einzelne Gasbläschen sichtbar, ohne daß hiermit ein Anfang zu einer eigentlichen Gärung gegeben wäre. Am 18. Februar ist der Salpeter noch überall nachweisbar. Die kräftige Decke bleibt bis zum Schluß unverändert	a—d	
2	500	"		a, c, d	b
3	100	"		a	b—d
4	10	"			a—d
5	1	"		b—d	a
6	0,1	"		b—d	a
7	0,01	a—c	11. Februar: Schwache Decke 12. " Lebhafte Schaumentwickelg. 13. " Salpeter verschwunden		
		d	11. " Deckenbildung beginnt. Die schwache Decke hält sich bis zum Schluß unverändert	d	

Nach Verlauf eines Monats war allerdings, wie sich aus der Tabelle ergibt, nur noch in 10 Gläsern der Salpeter nachweisbar, in 15 dagegen lieferte die Probe mit Diphenylamin ein negatives Resultat; trotzdem kann nicht von einer Denitrifikation in diesen 15 Gläsern gesprochen werden, da für diesen Vorgang die mit lebhafter Blasenentwickelung verknüpfte Entbindung von freiem Stickstoff als charakteristisch aufgefaßt wird [1]). Wie in der Tabelle verzeichnet ist, konnte vom 18. Februar ab, an welchem Tage in sämtlichen nicht gärenden Gläsern die Salpeterreaktion noch sehr stark war, trotz täglicher Kontrolle, in keinem Falle das Auftreten von Gasblasen wahrgenommen werden. Wahrscheinlich wurde der Salpeterstickstoff teils in Ammoniak, teils in organische Form übergeführt. Die in der letzterwähnten Richtung wirkenden Bakterien unterdrücken, wie Jensen [2]) beobachtet hat, die eigentlichen Denitrifikanten sehr energisch.

Da der unmittelbare Anblick der Versuchsgläschen noch viel deutlicher als obige Zusammenstellung erkennen ließ, wie vorteilhaft für die Herbeiführung einer energischen Denitrifikation in diesem Falle die Verwendung einer möglichst geringen Impfmenge sich erwies, so füge ich die Abbildungen der Gläschen 1a—d und

1) Jensen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 402, 403.
2) l. c. p. 402.

7a—d (Tafel I)[1]) der Arbeit bei[2]). Die Aufnahme wurde nach 5-tägiger Dauer des Versuches angefertigt. Es empfiehlt sich, bei der Betrachtung derselben die Lupe zu Hilfe zu nehmen, weil in diesem Falle der Unterschied zwischen Hautbildung und Schaumdecke besonders deutlich hervortritt. In den Gläsern 1a—c sind unter der kräftigen Haut einzelne Bläschen, wie oben erwähnt, zu erkennen.

Wenn man nun aber aus diesen Versuchen den Schluß ziehen würde, es sei, wie Hiltner behauptet, nötig, möglichst geringe Impfmengen in Anwendung zu bringen, so würde dies nicht im Einklang damit stehen, daß sowohl von Remy, wie auch von mir bei Verwendung relativ großer Impfmengen gute Resultate erzielt wurden, und eine Ueberwucherung der bei der betreffenden Umsetzung in Frage kommenden Gruppe von Mikroorganismen durch andere unerwünschte Bakterien in keinem Falle auftrat.

Hiltner fordert in dem oben zitierten Satze, daß die zur Untersuchung einer bestimmten Umsetzung benutzte Nährlösung „vorherrschend den Stoff enthält, an dem sich die spezifische Funktion betätigen soll". Die von ihm zu seinem Denitrifikationsversuche verwendete Salpeterbouillon (1 Proz. Pepton, 0,3 Proz. Salpeter) entspricht aber dieser Forderung nicht; die Lösung enthält vorherrschend Pepton, aber nicht den bei dieser Umsetzung in Frage kommenden Salpeter.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Symbiose von Azotobacter mit Oscillarien.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Instituts für Bodenlehre und Pflanzenbau zu Bonn-Poppelsdorf.]

Von Privatdozent Dr. **Hugo Fischer**, Bonn.

Der Azotobacter chroococcum Beijerinck, der als tätiger Stickstoffmehrer im Boden unser besonderes Interesse erregt, ist in neuerer Zeit noch besonders interessant geworden durch die eigenartigen symbiotischen Verhältnisse, in denen er nach Reinke[3]) zu Meeresalgen und zu Volvox steht.

---

1) Die auf einigen von den Etiquetten der auf Tafel I reproduzierten Gläser sichtbare IV bezieht sich auf die Numerierung im Journal. Die Versuche wurden in anderer Reihenfolge ausgeführt als diejenige ist, in der sie hier besprochen werden.

2) Ich möchte nicht unterlassen, Herrn Dr. W. Kuntze, Volontärassistenten am hiesigen Institut, der die Anfertigung dieser, sowie der übrigen dieser Arbeit beigegebenen Photogramme freundlichst übernahm, auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank hierfür auszusprechen.

3) Vgl. Reinke, J., Die zur Ernährung der Meeresorganismen disponiblen Quellen an Stickstoff. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellschaft. Bd. XXI. 1903. p. 371. — Symbiose von Volvox und Azotobacter. Ebenda. p. 481.

In ähnlicher, wenn auch loserer Symbiose scheint Azotobacter aber auch mit bodenbewohnenden Oscillarien vorzukommen. Aus mehreren, im Dezember 1903 von entfernten Stellen entnommenen Proben von schwarzgrünen Oscillaria-Kolonieen konnte (nachdem von Beijerinck empfohlenen Verfahren: Ueberschichten mit 1 proz. Mannitlösung) der genannte Organismus in Reinzucht erhalten werden, und zwar so rasch und üppig, daß man wohl ein besonders reichliches Vorkommen zwischen den Oscillarienfäden annehmen muß. Ihn daselbst direkt mikroskopisch nachzuweisen, gelang bisher nicht, wenigstens konnte ich ihn in dem Gewirr verschiedenartiger Organismen, die zwischen den Fäden wucherten, nicht mit absoluter Sicherheit herauskennen.

Auf dieses gemeinsame Vorkommen, für das ein gegenseitiger Austausch von Kohlenhydraten einerseits, Stickstoffverbindungen andererseits wohl mit Bestimmtheit angenommen werden kann, dürften die früheren Angaben zurückzuführen sein, wonach niedere Algen selbst atmosphärischen Stickstoff assimilieren sollten.

Schon vor 14 Jahren haben Schlösing und Laurent[1]) erwiesen, daß Erde, welche Bakterien und niedere Algen enthält, mit Stickstoff sich anreichert; die Frage, ob die Algen allein hierzu fähig wären, blieb offen, bis Kossowitzsch[2]) den Beweis erbrachte, daß eine Zunahme an Stickstoff nur in Mischkulturen, nicht in Reinkulturen wahrzunehmen war, was auch Krüger und Schneidewind[3]) nur erneut bestätigen konnten.

Es wäre zu wünschen, daß um auch in anderen Gegenden und auf anderen Böden (die Umgebung von Bonn hat fast nichts als Lehmboden) nach dem gemeinsamen Vorkommen niederer Algen mit Azotobacter oder anderen Stickstoffsammlern gesucht würde; namentlich das üppige Wachstum von Oscillarien und Lynybyen im dürrsten Sand, dessen erste Bewohner sie sind[4]), deutet auf eine lebendige Stickstoffquelle hin.

Aus einem Rasen von Hormidium parietinum und einem mit Pleurococcus vulgaris besetzten Rindenstück gelang die Züchtung des Azotobacter nicht. Weitere Untersuchungen sollen in günstigerer Jahreszeit folgen.

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1892. p. 65. und ebenda. p. 824.
2) Botan. Zeitung. Bd. LII. 1894. p. 97.
3) Landwirtsch. Jahrbücher. Bd. XXIX. 1900. p. 771 ff.
4) Vgl. Gräbner, P. Die Heide Norddeutschlands. Bd. V. von Engler und Drude, Die Vegetation der Erde. Berlin 1901. p. 88, 94.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,
Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Bongert, J., Bakteriologische Diagnostik für Tierärzte und Studierende. Wiesbaden (Nemnich) 1904. VI, 236 p. 20 Taf. u. 7 Fig. 8 M.

Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung. Hrsg. von P. Ehrlich. Berlin (Hirschwald) 1904. XII, 776 p. 8°. 12 Fig.

Lehmann, K. B. und **Neumann, R. O.**, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 3. verm. u. verb. Aufl. 2 Teile. München (Lehmann) 1904. XVI, 623 p. m. 1 Tab. u. 74 farb. Taf. m. VIII, 88 p. 8°. (Lehmanns med. Handatlanten 10.) 16 M.

Weiss, Bericht über die Tätigkeit der K. B. Station für Pflanzenschutz und Pflanzenkrankheiten in den Jahren 1901 und 1902. (Forts. u. Schluß.) (Vierteljahrsschr. d. Bayer. Landw.-Rates. Jg. VIII. 1903. Heft 4. p. 640—668; Ergänzungsheft zu Heft 4. p. 733—763.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Angelici, Gaetano, Recherches relatives à l'action antiseptique de la glycérine et du violet de méthyle sur le bacille de la morve. (Rec. de méd. vétér. T. LXXXI. 1904. N. 1. p. 14—18.)

Gley et **Richaud**, Sur la stérilisation du sérum gélatiné. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCV. 1904. N. 4. p. 185—188.)

Hesse, Gust., Beiträge zur Herstellung von Nährböden und zur Bakterienzüchtung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 1. p. 1—22.)

Novy, Frederick G. and **McNeal, Ward J.**, On the cultivation of Trypanosoma brucei. (Journ. of infect. dis. Chicago. Vol. I. 1904. N. 1. p. 1—30.)

Ross, Ronald, The thick-film process for the detection of organisms in the blood. (Thomson Yates and Johnston Laborat. Rep. T. V. 1903. Fasc. 1. p. 115—118. 1 Taf.)

Wirgin, Germund, Vergleichende Untersuchung über die keimtötenden und die entwickelungshemmenden Wirkungen von Alkoholen der Methyl-, Aethyl-, Propyl-, Butyl- und Amylreihen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 1. p. 149—168.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Dietel, P., Ueber die Uredineengattung Puccinostele Tranzschel et Komarov. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 1. p. 20—26.)

Fermin, Claudio und **Bassu, E.**, Untersuchungen über die Anaërobiosis. I. Abh. (Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 563—568.)

Fischoeder, F., Weitere Mitteilungen über Paramphistomiden der Säugetiere. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 598—601.)

Hefferan, Mary, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 16/18. p. 520—540.)

Hofer, Bruno, Handbuch der Fischkrankheiten. München 1904. XV, 359. p. 18 Farbentaf. u. 222 Fig. 8°. 12,50 M.

v. Höhnel, Franz, Mykologische Fragmente. (Forts.) Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 1. p. 38—60.)

Lewandowsky, Felix, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 1. p. 47—61.)

Looss, A., Einige Bemerkungen zu Pieris kurzer Erwiderung etc. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 602—605. [betr. Ankylostomum]).

Manzi, Luigi, Gli dei distruttori degli anofeli e l'uso antico delle fumigazioni e delle reti contro di essi. (Arch. de parasitol. T. VIII. 1904. N. 1. p. 88—109.)

Marchand, F. und **Ledingham, J. C. G.**, Zur Frage der Trypanosoma-Infektion beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 594—598. 1 Fig.)

Martini, Erich, Vergleichende Beobachtungen über Bau und Entwickelung der

Tsetse- und Rattentrypanosomen. (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 219—238.

Ottolenghi, D., Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 546—553. 3 Fig.)

Papenhausen, Hubert, Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung bei den Bakterien. (Arb. a. d. bakteriol. Inst. d. techn. Hochschule Karlsruhe 1903. 37 p. Sep. Wiesbaden (Nemnich) 1903. 1,20 M.

Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen. (Forts.) (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 537—545.)

Rehm, H., Ascomycetes Americae borealis. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. No. 1. p. 32—37.)

Ruge, Reinhold, Der Anopheles maculipennis (Meigen) als Wirt eines Distomum. (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 174—176. 1 Fig.)

Sabrazès, J. et **Muratet, L.**, Vitalité du Trypanosome de l'anguille dans des sérosités humaines et animales. Osmonocivité de l'eau. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 4. p. 159.)

Selter, Hugo, Ueber ein rotzähnliches Bakterium beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 529—531.)

Sergent, Edmond et **Étienne**, Sur une Hémogrégarine, parasite de Testudo mauritanica. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 4. p. 130—131.)

— —, Sur les Hématozoaires des oiseaux d'Algérie. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 4. p. 132—133.)

Stempell, W., Ueber die Entwickelung von Nosema anomalum Monz. [Vorl. Mitt.] (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904. N. p. 293—295.)

Süchting, H., Kritische Studien über die Knöllchenbakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 16/18. p. 496—520.)

Sydow, H. u. P., Neue und Kritische Uredineen. II. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 1. p. 27—31.)

Vejdovský, F., Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 16/18. p. 481—496. 1 Taf.)

Vuillemin, Paul, Le Spinellus chalybeus (Dozy et Molkenboer) Vuillemin et la série des Spinellées. (Ann. Mycol. Vol. II. 1904. N. 1. p. 61—69. 1 Taf.)

Zschokke, F., Die Cestoden der südamerikanischen Beuteltiere. (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904. N. 9. p. 290—293.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Erdwein, Gg., Ueber Trinkwasserreinigung durch Ozon und Ozonwasserwerke. Leipzig (Leineweber) 1904. 35 p. 8⁰. 18 Fig. u. Tabellen. 2 M.

Konrádi, Daniel, Typhusbacillen im Brunnenwasser. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 568—574.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Tirelli, G. e **Ferrari Lelli, F.**, Ricerche batteriologiche sulle maschere carnevalesche. (La Rif. med. Anno XX. 1904. N. 3. p. 60—61.)

Milch, Molkerei.

Bokorny, Th., Nochmals über den Einfluß einiger Substanzen auf die Milchgerinnung. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 7. p. 97—98.)

Nicolle, C. et **Duclaux, E.**, Recherches experimentales sur la conservation du lait. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVI. 1904. N. 2. p. 101—112.)

Renard, Adolphe, La conservation du lait par l'eau oxygénée. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVI. 1904. N. 2. p. 97—100.)

von Soxhlet, Franz, Hygiene der Milchversorgung. (Molkerei-Ztg. Jg. XIV. 1904. N. 7. p. 73—75.)

—, Hygiene der Milchversorgung. [Schluß.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIV. 1904. N. 8. p. 85—87.)

Sperk, Bernhard, Ueber die Prinzipien der städtischen Kindermilchversorgung. (Verh. 20. Vers. d. Ges. f. Kinderheilk. Cassel 1903. Wiesbaden 1904. p. 52—60.)

Swithinbank and **Newman**, Bacteriology of milk. London (Murray) 1904. 8⁰. 78 Fig. maps etc. 28,75 M.

Willoughby, E. P., Milk. Its production and uses. With chapters on dairy farming, the diseases of cattle etc. London (Griffin) 1904. 8°. 7 M.

Fleisch.

von Drigalski, Ueber eine durch Genuß von Pferdefleisch veranlaßte Massenvergiftung. Beitrag zur Aetiologie der Fleischvergiftung. (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 409—444.)

Hartenstein, Ueber Fleischvergiftungen. [Schluß.] (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. V. 1904. N. 4. p. 61—64.)

Long und **Preusse,** Praktische Anleitung zur Trichinenschau. 5. Aufl. bearb. v. M. Preusse. Berlin (Schoetz) 1904. IV. 65 p. M. Fig. 8°. 2,50 M.

Bier, Brauerei.

Beau, Maurice, La technique beurrière en Danemark. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 6. p. 183—185.)

Bleisch, C. und **Regensburger, P.,** Wie weit wird der Endvergärungsgrad von Maischtemperatur und Maischverfahren beeinflußt? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 8. p. 109—114.)

Boneck, G., Die Regulierung des Endvergärungsgrades und das Springmaischverfahren. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 8. p. 102—103.)

Brandis, Mykoderma: Ein Beitrag zur Infektionsfrage. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 7. p. 96—97.)

Braun, Richard, Reinzucht aus Faßgeläger. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 7. p. 93—95.)

Claussen, N. Hjelte, Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und ihre Erreger. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 8. p. 117—121.)

O. K., Abnorme Vergärung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 7. p. 97.)

Lehmann, R., Das Springmaischverfahren; seine Einwirkung auf obergärige Hefen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 8. p. 103—104.)

Windisch, Erörterungen über das Springmaischverfahren und damit zusammenhängende Fragen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 8. p. 101—102.)

—, Die Bestimmung des Endvergärungsgrades. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 8. p. 104.)

Wein, Weinbereitung.

P., Das Brechen und das Trübwerden der Weine. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 7. p. 61—62.)

Delle, Ed., L'acide succinique dans les vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 13. p. 50.)

Guénaux, G., La fabrication du vinaigre chez les negociants en vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. N. 12. p. 46.)

—, L'acide sulfureux dans les vins. Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 14. p. 54.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Butjagin, B., Vorläufige Mitteilung über Sauerkrautgärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 16/18. p. 540—550.)

Die Vergiftungen durch Bohnenkonserven in Deutschland. (Konserven-Ztg. Jg. 1904. N. 6. p. 57—58.)

Levy, Fritz, Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. XII. Neue Beiträge zur Bakteriologie der Mehlteiggärung und Sauerteiggärung. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 1. p. 62—112.)

Ott, J. M., Zu den Vergiftungen in Darmstadt. (Konserven-Ztg. Jg. 1904. N. 7. p. 67—68.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Andrewes, F. W. and **Orton, K. J. P.,** A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 645—651.)

Bellei, Giuseppe, Verbesserte Methode zur Bestimmung des Wertes von chemischen Desinfektionsmitteln. (Münch. med. Wchnschr. Jg. LI. 1904. N. 7. p. 301—304.)

Engels, Experimentelle Beiträge zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. I. u. II. Teil. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 2. p. 129—197.)

Fraenkel, Carl, Untersuchungen an einem Rieselfeld. (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 501—508.)

Koch, E., Ueber die bakterizide Wirkung des Wismutsubnitrates und des Bismon (kolloidalen Wismutoxyds). (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 640—645.)

Liedke, Alfred, Ueber die Desinfektion mit Karboformalglühblocks. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 651—656.)

Lindner, P. und **Matthes, P.,** Montanin, ein neues Desinfektionsmittel. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 7. p. 89—91.)

Proskauer, B. und **Croner, Fr.,** Die Kläranlage für die Kolonie und Arbeitsstätten der Berliner Maschinenbau-Aktiengesellschaft, vormals L. Schwartzkopff, in Wildau bei Berlin. (Biologisches Verfahren mit Faulkammersystem.) (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 571—582.)

Proskauer, B. und **Elsner, M.,** Die neue Berliner Wohnungsdesinfektion. Ein Beitrag zur Formalindesinfektion. (Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. Jena 1903. p. 583—598. Mit 1 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Appel, Otto und **Strunk, H. F.,** Ueber einige in Kamerun auf Theobroma cacao beobachtete Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 16/18. p. 551—557. 9 Fig.)

Buhl, Franz, Die tierischen Freunde und Feinde des Weinbaues. [Vortrag.] (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 78—79; N. 8. p. 91—93.)

Danckelmann, P., Ueber die Bekämpfung der Nonne in Schweden 1898 bis 1902. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXX. 1904. Heft 2. p. 65—69.)

Dementjew, Arkadij, Die Chlorose der Pflanzen und Mittel zu ihrer Bekämpfung. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 6. (ersch. 1904) p. 321—338.)

Ravaz, L., La brunissure de la vigne (Suite). (Ann. de l'école nat. d'agricult. de Montpellier. N. Sér. T. III. 1904. Fasc. 3. p. 175—251. 2 Taf., 22 Fig. u. Tab.)

Reuter, E., In Norwegen im Jahre 1901 beobachtete Pflanzenschädigungen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 6 (ersch. 1904). p. 338—340.)

Ritzema Bos, J., Belangrijke problemen der phytopathologie. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. IX. 1903. afl. 5/6. p. 147—182.)

—, Monilia-ziekten bij onze ooftboomen. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. IX. 1903. Afl. 5/6. p. 125—145. 3 Taf. u. 10 Fig.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Burri, R., Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei, p. 192.

Dietel, P., Betrachtungen über die Verteilung der Uredineen auf ihren Nährpflanzen, p. 218.

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév., p. 235.

Fischer, Hugo, Ueber Symbiose von Azotobacter mit Oscillarien, p. 267.

Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Forts.), p. 177.

Loew, Oscar, Bemerkung über den Bacillus methylicus, p. 176.

Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung, p. 262.

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. (Forts.), p. 161.

Ruhland, W., Ein neuer verderblicher Schädling der Eiche, p. 250.

Schiff, Ruggero, Bakteriologische Untersuchung über Bacillus Oleae (Arc.), p. 217.

Solereder, H., Ueber Frostblasen und Frostflecken an Blättern, p. 253.

Telesnin, L., Der Gaswechsel abgetöteter Hefe (Zymin) auf verschiedenen Substraten, p. 205.

Neue Litteratur, p. 269.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. Jena, den 30. Juni 1904. **No. 9/10.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage.

Kritisches Referat.

Von Prof. Dr. **W. Winkler**, Wien.

(Schluß.)

Bei Untersuchung des Innern der Versuchskäse findet Verf. bei dem nicht geimpften Käse keine Tyrothrix-Bacillen, sondern hauptsächlich verflüssigende Kokken, die nach 11 Tagen Milchsäurebakterien mehr oder minder Platz machen. In dem mit Tyrogen hergestellten Käse ergaben sich in der frischen Käsemasse keine Tyrothrix-Bacillen, nach 24 Stunden auf einmal 5 Proz., nach 2, 3 und 4 Tagen wieder keine, nach 7 Tagen etliche, dann wieder

keine, wogegen anfangs fast nur verflüssigende Kokken auftreten, die nach 11 Tagen auf den 8. Teil zurückgehen.

Bei dem 3. Versuchskäse endlich mit Reinkulturen von Bacillus nobilis finden sich in der frischen Käsemasse fast nur Keime von Bac. nobilis, nach 2 Tagen keine, nach 3 und 4 Tagen sehr wenige, nach 6 Tagen eine große Menge (0,1 Proz. sämtlicher Keime), am 11. Tage wieder sehr wenige. Nach 2 Tagen treten an ihre Stelle verflüssigende Kokken und Kurzstäbchen (fast 90 Proz. der Keime), die nach und nach zurückgehen und am 11. Tage auf den 40. Teil sinken.

G. T.-P. beschränkt sich auf folgende Schlüsse:

Die Anzahl der Tyrothrix-Bacillen in der Rinde sowohl alter wie junger Käse ist im Vergleich mit der großen Gesamtzahl der Bakterien, sowie im Verhältnis zu den übrigen peptonisierenden Bakterien eine verschwindende.

Es hat sich keine Vermehrung der Tyrothrix-Bacillen in den Versuchskäsen während der ersten Tage gezeigt.

Wenn große Mengen des Bac. nobilis eingeimpft wurden, nahm die Zahl derselben in den zwei ersten Tagen sehr rasch ab.

Diese Resultate stimmen also mit denen von Freudenreich vollständig überein, und bestätigen seine Ansicht, daß der Bac. nobilis nicht als Reifungserreger des Emmentalerkäses anzusehen sei.

Wenn man aber die Versuche noch besser ausbeuten will, so muß man noch folgendes hinzusetzen:

1) Verflüssigende Kokken und Kurzstäbchen treten auf der Rinde der Laibkäse immer, im Innern der Käse in den ersten Tagen nach der Bereitung in so überwiegender Menge auf, daß man ihnen einen wichtigen Anteil an der Reifung nicht absprechen kann.

2) Thyrothrix-Bacillen finden sich nach Anwendung von Reinkulturen in der Käsemasse in den ersten 24 Stunden in beträchtlicher Menge und nach einer an einer anderen Stelle (Einfluß niederer Temperaturen etc.) geäußerten Ansicht Freudenreichs ist dies hinreichend, daß sie Enzyme produzieren, die langsam nachwirken.

3) Wie unsicher das gewöhnliche Plattenverfahren ist, beweisen auch diese Versuche, da ja Tyrothrix-Bacillen, die am 6. Tage in erheblicher Menge vorhanden sind, nicht am 2., 3. und 4. Tage fehlen können.

Es geht übrigens durchaus nicht an, bloß aus der anscheinend geringen Zahl der Tyrothrix-Bacillen auf deren Bedeutungslosigkeit für die Käsereifung zu schließen, da ja ein Tyrothrix-Bakterium in der Proteolyse einem Milchsäurebakterium mindestens um das 1000fache überlegen ist.

Das in Punkt 3 geäußerte Bedenken kommt übrigens auch bei anderen Käsebakterien zur Geltung. So konnte Freudenreich bei 2 Versuchskäsen, die er mit Kulturen von Bac. ε impfte, denselben nicht mehr auffinden. (Weitere Beiträge zur Käsereifung, Landw. Jahrb. der Schweiz. Bd. XV).

Gehen wir nun zur Besprechung der dritten der zitierten Ar-

beiten, der wertvollen Arbeit Freudenreichs „Milchsäureferment und Käsereifung", über.

Aus möglichst aseptisch gewonnener Milch stellte F. 35 Versuchskäse her.

Zu jedem Käse wurden 14 l Milch verwendet und die Käse nach 5—6 Monaten von einer Kommission von Fachleuten geprüft. Die Käse samt den Beurteilungsresultaten waren folgende:

6 Kontrollkäse (ohne Impfung); nach 5—6 Monaten sehr wenig gereift, lederartig.

4 Käse mit dem verflüssigenden Micrococcus und Kunstlab. Nach 5 Monaten deutliche Reifung, aber bitter.

4 Käse mit dem verflüssigenden Micrococcus und Naturlab. Deutliche Reifung, guter Geschmack, bester Käse.

4 Käse mit Naturlab allein. Deutliche Reifung, aber härter.

4 Käse mit dem verflüssigenden Micrococcus und Milchsäurebakterien α, γ, δ, ε und B. lactis acidi. Gute Reifung, aber etwas bitter, Geschmack ähnlich den Naturlabkäsen.

2 Käse mit Mischkultur der vorher genannten Milchsäurebakterien (einer noch mit Zusatz des verflüssigenden Micrococcus). Deutliche Reifung, Geschmack ähnlich den Naturlabkäsen.

4 Käse mit Kulturen der genannten Milchsäurefermente allein. Weniger gereift, Geschmack fein, feiner als bei den anderen Käsen.

2 Käse mit Bouillonkulturen von Bac. nobilis. Faule Stellen, stinkender Geruch. Die nicht faulig gewordenen Stellen zeigen keine Reifung.

3 Käse mit Tyrogenzusatz. Schlechter Geschmack, sehr wenig gereift.

1 Käse mit Bac. nobilis, dem verflüssigenden Coccus und Naturlab. Gute Reifung, doch etwas Beigeschmack.

1 Käse mit Bac. nobilis und Naturlab. Gute Reifung, kein Beigeschmack; zu den beiden letzten Käsen lautete das Urteil der Kommission: Reifung gut, aber nicht so gut wie die bloß mit Milchsäurefermenten geimpften Käse. Teig fein, aber etwas bitter.

Aus den Ergebnissen dieser Versuche zieht Fr. vier Schlüsse, die in Kurzem folgende sind:

1) Kontrollkäse aus möglichst aseptisch gewonnener Milch bereitet, reiften nicht.

2) Milchsäurefermente, wie sie sich namentlich im Naturlab entwickeln, bewirken hauptsächlich die Reifung und speziell die Bildung von Zersetzungsprodukten, welche die Reifung der Hartkäse charakterisieren.

3) Auch der verflüssigende Coccus, der ebenfalls ein Milchsäurebakterium ist, nimmt wahrscheinlich am Reifungsprozesse teil.

4) Bac. nobilis und wohl auch alle verwandten Tyrothrix-Bacillen spielen bei dem Reifungsprozeß der Hartkäse absolut keine Rolle.

Wenn der Artikel etwas weniger auf den Bac. nobilis und die Milchsäurefermente zugespitzt wird, kann man aus den schönen Versuchsreihen und den beigefügten Ergebnissen der chemischen Untersuchung, wenn wir dieselben im Sinne Freudenreichs wiederum als Maßstab benützen, noch folgendes herauslesen:

1) Die größte Menge löslicher Stickstoffsubstanz erzeugte der verflüssigende Coccus allein; die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte ist jedoch geringer.

2) Dieser Coccus, in Verbindung mit dem an Milchsäurefermenten reichen Naturlab, hat die besten Käse gegeben. Nach dem Urteil der Käsekenner war „die Gärung am besten entwickelt“. In chemischer Beziehung war die Menge der löslichen Stickstoffsubstanzen geringer als bei den vorigen Käsen, die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte aber am größten, und wenn auch nach Bondzynski die Menge derselben den Charakter des Emmentalers bedingt, so waren die Käse auch in chemischer Beziehung die besten.

3) Durch die Anwendung eines Gemisches von Milchsäurefermentkulturen, eigentlichen Milchsäurebakterien (B. lactis acidi) und Käsemilchsäurefermenten (Bacillus α, γ, δ, ε), wurde eine deutliche Reifung und feiner Geschmack erzielt, die Reifung war jedoch verzögert und die gebildete Menge von löslicher Stickstoffsubstanz und Eiweißzersetzungsprodukten geringer als bei den mit Naturlab allein hergestellten Käsen.

4) Das Naturlab enthält genügend Reifungsfermente und bewirkt allein schon einen ziemlich normalen Verlauf der Reifung. Die von F. daraus isolierten Milchsäurebakterien scheinen dies aber allein jedoeh nicht zu tun.

5) Die eigentlichen Milchsäurebakterien (vom Typus des B. lactis acidi) vermehren sich im Käse ganz außerordentlich stark; die Käsereifungsbakterien, auch die Käsemilchsäurefermente Freudenreichs treten gegen dieselben sehr zurück.

6) Die 2 Käse mit Kulturen von Bac. nobilis und Naturlab ergaben gute Reifung und derjenige, der nur diese zwei Zusätze erhalten hatte. zeigte auch „keinen Beigeschmack“; scheint also ein sehr guter Käse gewesen zu sein. (Es ist der einzige Versuchskäse Freudenreichs, der in richtiger Weise mit Bac. nobilis-Kulturen hergestellt wurde.)

7) Die zwei mit Bouillonkulturen von Bac. nobilis und Kunstlab bereiteten Versuchskäse sind allerdings schlecht ausgefallen, da sie aber faule Stellen neben ganz ungereiften enthalten, so sind offenbar Fehler bei der Herstellung und Behandlung gemacht worden. Mit den übrigen Versuchsergebnissen, die F. mit Bac. nobilis hatte (13 Käse), ist das Resultat, daß Bac. nobilis die Käsemasse unter normalen Verhältnissen nicht löste, unvereinbar. Die faulen Stellen durfte übrigens F., da er in denselben Bac. nobilis nur spärlich fand, nicht auf Rechnung desselben setzen. Die 2 Käse sind jedenfalls nicht einwandsfrei und berechtigen zu keinem gültigen Schlusse. F. aber fühlt sich durch dieselben zu folgenden Aeußerungen ermutigt:

„Da wir ja gesehen haben, daß B. nobilis, wenn er sich entwickelt, nur Verheerungen anstiftet“ etc. und „obwohl das Tyrogen schon über 1 Jahr in den Handel gebracht worden ist, sind mir noch von keiner Seite Mitteilungen über etwaige günstige Wirkungen desselben zugegangen, und so glaube ich denn, daß der von Prof. Adametz in so feierlicher Weise in den Adelstand erhobene

Bac. nobilis („Edelpilz des Emmentalerkäses") in Bälde wieder in das Proletariat der gemeinen Fäulnispilze zurücksinken wird". —

Mit dieser gänzlichen Verurteilung des Bac. nobilis ist Fr. offenbar abgekommen von dem Wege ruhiger Ueberlegung und korrekter Schlußfolgerung; die Beobachtungen, die andere mit der Anwendung des Bac. nobilis gemacht haben, sind doch nicht aus der Luft gegriffen. Zu den Fäulnisbakterien kann Bac. nobilis einfach deswegen nicht gezählt werden, weil unter seinen Stoffwechselprodukten charakteristische Fäulnisprodukte (Indol, Skatol etc.) nicht vorkommen.

Wer die gewiß sehr schönen und interessanten Versuchsreihen, die F. bei dieser Arbeit angestellt hat, unbefangen überblickt, wird den Eindruck gewinnen, daß gewisse stärker peptonisierende Bakterien (der verflüssigende Micrococcus und Bac. nobilis) in Verbindung mit den Milchsäurefermenten des Naturlabes diejenige Reifung erzeugt haben, die der erwünschten am nächsten gekommen ist.

Auch die Versuche, welche Freudenreich und O. Jensen (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900) mit großen Emmentalerkäsen aus pasteurisierter Milch mit Zusatz von Kulturen von Tyr. tenuis und verschiedenen Milchsäurefermenten anstellten, beweisen deutlich, daß die Verbindung von Tyrothrix-Arten mit Milchsäurefermenten den besten Reifungseffekt in geschmacklicher und chemischer Beziehung brachten. Desgleichen sprechen die von Freudenreich in der Arbeit über die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung (Landw. Jahrb. der Schweiz. 1901) publizierten Versuche mit Kulturen verschiedener von Chodat in Genf aus Schweizerkäse isolierten Tyrothrix-Arten dafür, daß die Tyrothrix-Arten bedeutende Kaseïnzersetzungen hervorzubringen vermögen, aber allein und in großer Menge angewendet dem Käse einen bitteren Geschmack verleihen, der jedoch durch die Mitwirkung von Milchsäurebakterien (Naturlab) behoben wird.

Gewiß haben die Milchsäurefermente allein, d. h. die Gruppe der Käsemilchsäurebakterien α, γ, δ, ε in Verbindung mit Bac. lactis acidi Reifung bewirkt und den Geschmack verfeinert, aber nach allem scheint durch sie die Reifung sehr langsam vor sich zu gehen. Allem Anschein nach mißt auch Freudenreich dem verflüssigenden Micrococcus von Jahr zu Jahr mehr Bedeutung zu, und er nennt ihn bereits seinen Micrococcus. Er charakterisiert denselben als ein Milchsäurebakterium, das mit einem bedeutenden Auflösungsvermögen des Kaseïns ausgestattet ist. Viel Zersetzungsprodukte bildet er nicht, und wenn er sich ungehindert in Käsen entwickeln kann, mache er sie bitter. In der Praxis verschwinde er ziemlich rasch, wahrscheinlich infolge der Konkurrenz der übrigen Milchsäurefermente, so daß er es nicht dazu bringt, die Auflösung des Kaseïns bis zum Bitterwerden durchzusetzen. Da er sich aber nach den Untersuchungen F. und von Gerda Troili-Peterson in den allerersten Tagen nach der Herstellung der Käse in denselben stark vermehre, werden wohl die von ihm gebildeten Enzyme auflösend wirken und dadurch das Werk der eigentlichen Reifungsbacillen erleichtern.

Was nun die Bewährung des Tyrogen in der Käsereipraxis anbelangt, so ist es richtig, daß bisher wenig günstige und manche absprechende Urteile aus der Praxis bekannt wurden, aber dies hat nach meiner Ansicht seinen Grund zum Teil in einer unrichtigen Anwendung des Tyrogen, zum Teil vielleicht auch in einer nicht ganz richtigen Herstellung des Präparates.

Zunächst seien hier drei günstige Urteile über Tyrogen mitgeteilt:

A. In einer kleineren Molkerei in Krain wurden im Jahre 1901 Laibkäse aus Zentrifugenmagermilch hergestellt, und zwar teilweise mit Zusatz von Tyrogen (Handelskultur) nach den mitgegebenen Vorschriften, ohne daß jedoch die Rinde der Käse gepinselt wurde. Die Tyrogenkäse waren durchaus weicher, saftiger und reiften schneller. Daß sie auch im Geschmack besser waren, zeigte sich am deutlichsten im höheren Preise, der dafür geboten wurde und darin, daß zum Schluß von den Konsumenten nur mehr die Tyrogenkäse verlangt wurden. Der Käser äußerte sich sehr günstig über die Wirkung des Tyrogens und vom Besitzer langte ein warmes Dankschreiben ein.

B. In der Vorarlberger Landeskäsereischule in Doren wurden im Laufe von $2^1/_2$ Jahren 24 Tyrogenkäse nach Emmentaler Art im Gewichte von 80—90 kg hergestellt. Von all diesen Käsen hatte nur einer einen schlechten Geschmack, die übrigen konnten alle zu den guten und sehr guten Käsen mit ausgesprochenem Emmentalercharakter gezählt werden. Bei mittleren und stärkeren Tyrogenzusätzen konnte von geübten Kennern ein charakteristischer, leicht säuerlich-prickelnder („mostartig-prickelnder"), keineswegs unangenehmer Beigeschmack wahrgenommen werden; Käse mit geringeren Zusätzen hatten einen vollkommen reinen Geschmack. Der Jahresbericht der Käsereischule Doren 1903 sagt darüber: „Das Tyrogen verleiht den Käsen im allgemeinen einen typischen, angenehm-prickelnden Emmentalergeschmack". An Stücken, die längere Zeit an der Luft gelegen hatten, war ein ganz schwacher Geruch nach Bouillon zu verspüren, der erst nach 2—3 Monaten stärker hervortrat. Es ist interessant, daß auch bei der Eiweißverdauung mit reinem Trypsin ein deutlicher Bouillongeruch auftritt. Zu den Käsen in Doren wurde immer Naturlab verwendet. Die ersten derselben waren mit Trockenkulturen hergestellt worden; für die letzten 14 Käse wurden die Kulturen zwar 6—24 Stunden in aufgekochter Milch aufgezüchtet. Dadurch wurde die Wirkung des Tyrogens bedeutend gehoben und der Geschmack erheblich verfeinert. Die richtig bereiteten Tyrogenkäse übertrafen gleichaltrige Emmentalerkäse aus Doren häufig an Feinheit des Geruches, Geschmackes und Teiges. Als Wirkung des Tyrogens konnte beobachtet werden, daß der Teig weicher und geschmeidiger wurde und ein besseres Ansehen gewann, Geschmack, Geruch und Aroma des Käses gleichmäßig fein bis sehr fein wurden. Die Lochung wurde anscheinend nicht beeinflußt. Tyrosinkörner (Salzsteine) wurden nicht mehr gebildet als in anderen Emmentalerkäsen. Bei größeren Zusätzen (150 g per 1000 l) von Tyrogen trat der charaktistische Tyrogengeschmack zu stark hervor. Die Käse waren auch etwas

bitterlich. Auffallenderweise erteilten in abgekochter süßer, zentrifugierter Molke aufgezüchtete Tyrogenkulturen den Käsen (5 Stück) einen unangenehmen bitterlichen Beigeschmack, ein Beweis dafür, daß das Kulturmedium für die Wirkung der Tyrothrix-Arten nicht gleichgültig ist. Am besten hatte sich ein Zusatz von 40 g Tyrogen per 1000 l Milch, 8 Stunden in Milch aufgezüchtet, bewährt.

C. Ein Molkereibesitzer in Niederösterreich verarbeitete Milch, die aus einer Mühle stammte, auf Käse nach Tilsiter Art ohne und mit Zusatz von Tyrogen. Die Käse ohne Zusatz waren schlecht, bitter, fast ungenießbar, während diejenigen mit Tyrogen einen annehmbaren Geschmack erhielten.

Darnach wird sich die Anwendung von Tyrogen besonders dort empfehlen, wo eine mindere, fehlerhafte, halbfette oder Magermilch auf Hartkäse verarbeitet werden soll. Hier wird Tyrogen, richtig angewendet, ganz erheblich verbessernd wirken.

Aber auch dort, wo die Bedingungen für die Herstellung guter Emmentaler gegeben sind, wird unter Umständen eine gewisse Gleichmäßigkeit des Produktes ohne die Gefahr einer Verschlechterung von Vorteil sein. Allerdings sind die näheren Umstände für die beste Wirkung des Tyrogens in der Käsereipraxis noch nicht genau festgestellt. Vor allem wird man Milchkulturen anwenden (die guten Erfolge mit Bac. nobilis bei den Käsereiversuchen in Holics sind zum Teil diesen zuzuschreiben) und den Sauerzusatz resp. den Säuregrad des Naturlabes richtig bemessen müssen. Auf das richtige Gleichgewicht von Milchsäure- und geeigneten peptonisierenden resp. trypsinisierenden Bakterien scheint in der Emmentaler Käserei sehr viel anzukommen. Man weiß es ja auch aus der Käsereipraxis, daß der richtige Säuregrad des Naturlabes (20—30) von außerordentlicher Wichtigkeit ist und bei zu saurem Lab die Käse mißlingen.

Vergleichen wir nun noch die 8 Tyrogenkäse von normalem Gewicht, welche Freudenreich zur Erprobung des Tyrogens und Bac. nobilis in Schweizer Käsereien herstellen ließ. Von diesen 8 Käsen waren 3 mit Naturlab, 5 mit Kunstlab hergestellt worden. Nur einer davon war als Ausschußware bezeichnet worden. Bei den übrigen war ein Unterschied nicht oder nicht sicher bemerkbar und dieselben wurden von dem Händler zu gleichen Preisen gekauft wie die Kontrollkäse. Die Versuche im großen sind also viel besser ausgefallen als die im kleinen, sogar diejenigen mit Kunstlab — wohl deshalb, weil hier der Bac. nobilis nicht im Uebermaß angewendet worden war. Von einer Verbesserung der Käse war nichts zu bemerken, aber auch nichts von einer Verschlechterung (mit einer Ausnahme, die jedoch auch einen anderen Grund gehabt haben kann) am wenigsten die verheerende Wirkung, die Freudenreich dem Bac. nobilis zuschreiben will.

Halten wir alle Beobachtungen über B. nobilis zusammen, so müssen wir sagen, daß das absprechende Urteil Freudenreichs über den Bac. nobilis und das Tyrogen ganz unbegründet ist.

Damit ist wohl der dritte Einwand, den er gegen Bac. nobilis erhob, genügend entkräftet und zugleich ist es für den

1. und 2. sehr wahrscheinlich gemacht, daß dieselben auf Unzulänglichkeiten der Untersuchungsmethode zurückzuführen sind. Nach meinen eigenen, allerdings nicht sehr ausgedehnten Versuchen lassen sich mit geeigneten Nährböden aus fast jedem Emmentalerkäse Tyrothrix-Bakterien leicht herauskultivieren, besonders in den ersten Monaten, aber selbst nach 7—8 Monaten ließ sich der Bac. nobilis in solchen Käsen, denen er zugesetzt war, unschwer nachweisen.

Vorläufig kann man ruhig den B. nobilis zu den Reifungs- und Aromaerregern des Emmentalerkäses rechnen, mindestens mit demselben Recht wie die Freudenreichschen Käsemilchsäurefermente (Bac. α, γ, δ, ε). Eine günstige Wirkung dieser letzteren ist bisher aus der Praxis auch nicht bekannt geworden. Selbst die zahlreichen Versuchskäse bieten nicht viel sichere Anhaltspunkte für die Wirksamkeit dieser Bakterien. Die mit Reinkulturen derselben erzielte Reifung war jedenfalls geringer als mit Naturlab allein. (Freudenreich, Weitere Beiträge zur Käsereifung, Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. XV.) Durch Reinkulturen von Bac. ε allein war überhaupt keine Reifung zu bewirken. Erst durch die früher zitierten (Milchsäureferment und Käsereifung) 4 Versuchskäse sind von Freudenreich gültige Beweise dafür gewonnen worden, daß diese Bakterien als Käsereifungserreger anzusehen sind.

Boekhout und O. de Vries kommen bei ihren Untersuchungen über die Reifung des Edamerkäses (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901) gleichfalls zu dem Schlusse, daß auch bei diesem Käse langstäbchenförmige, schwache Milchsäurebakterien, die ohne Milchzucker zu wachsen vermögen, die Haupterreger der Reifung sind, wollen dies aber erst durch neuerliche Versuche genauer nachweisen.

Nachdem die verschiedenen Standpunkte der Bakteriologen bezüglich der Käsereifung näher geprüft worden sind, muß noch die dritte von Fischer als maßgebend hingestellte Ansicht, die Käsereifung verlaufe hauptsächlich durch die Einwirkung der Galaktase, besprochen werden.

Babcock und Russell (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900) haben auf die Tätigkeit dieses Enzyms daraus geschlossen, daß Käse, die 1 Jahr in Chloroform lagen, doch ganz gut reiften. Sie haben später das fragliche proteolytische Enzym, das sie „Italics" tauften, halbwegs isoliert und auf seine Eigenschaften geprüft. Sie fanden, daß es dem Trypsin sehr ähnlich bei schwach alkalischer oder neutraler Reaktion am besten wirke, durch größeren Säuregehalt aber gestört werde. Vom Trypsin unterscheide es sich jedoch dadurch, daß es bei der Kaseïnzersetzung nicht nur Albumosen und Peptone, sowie Amidverbindungen bilde, sondern auch Ammoniak und dadurch nähere es sich sehr den Enzymen proteolytischer Bakterien. Es sei hier eingefügt, daß ja auch Ammoniak zu den bei der Trypsinverdauung entstehenden Eiweißzersetzungsprodukten gezählt wird, und daß Slyke, Harding und Hart an der Versuchsstation in Geneva bei ihren Versuchen fanden, daß das Milchenzym erst bei Gegenwart von Säure deutliche Lösung des Parakaseïns bewirke. Als Material für die Gewinnung der Galak-

tase benutzten Babcock und Russell frischen Zentrifugenschlamm. Demgegenüber bemerkt schon O. Jensen, daß der Zentrifugenschlamm sehr zahlreiche Bakterien, aber auch Bakterienenzyme enthalte, die sehr wohl die beobachtete Wirkung herbeigeführt haben könnten.

O. Jensen (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900) weist ferner mit Recht darauf hin, daß der Versuch mit chloroformierten Käsen nicht einwandfrei sei, da ja das Chloroform wegen seiner Schwerlöslichkeit im Wasser den Käse nicht vollkommen durchdrungen und die Tätigkeit der vorhandenen Bakterien nicht aufgehoben haben kann. Bei seinen Versuchen, bei welchen er reifende Käsemasse mit einem bestimmten Volumen Wasser zusammenrieb und mit 1 Promille Formalin längere Zeit stehen ließ, kommt er zu dem Schlusse, daß weder bei der Reifung der Backsteinkäse noch der Hartkäse die Galaktase eine erhebliche Rolle spielen könne, somit für die Reifung der Käse nicht in Betracht komme.

Boekhout und O. de Vries wenden gegen Babcock und Russell ein, daß es ja nicht bewiesen sei, der Käsestoff sei in Wasser völlig unlöslich, und durch Erhitzen auf 95 ° C sei er doch etwas verändert. Ist schon danach die Hervorrufung der Käsereifung durch die Galaktase höchst zweifelhaft, so verliert die Ansicht durch die neueren Versuche noch mehr an Boden. Sowohl E. Freudenreich als Boekhout und O. de Vries haben durch eine genügende Anzahl von Versuchen (10 Fälle) übereinstimmend nachgewiesen, daß Käse, die aus aseptisch gewonnener Milch hergestellt wurden, nicht reiften. Das ist zweifelsohne ein stichhaltiger Beweis gegen Babcock und Russell, wenn nicht die Behauptung von Slyke, Harding und Hart, das Milchenzym wirke erst bei Anwesenheit von Säuren, hier zur Geltung kommt; denn die aseptisch gewonnene Milch enthält meist keine Milchsäurebakterien. Die Einwände, daß die Galaktase in der sauren Käsemasse nicht zur Wirkung kommen, daß sie höchstens $^1/_5-^1/_{10}$ der Reifung bewirken könne, daß schon geringe Aenderungen in der Fabrikationstechnik, welche die Galaktase doch nicht beeinflussen können, der Reifung einen anderen Verlauf geben, sind weit weniger schwerwiegend.

Erwähnt muß noch werden, daß Boekhout und O. de Vries finden, die Existenz der Galaktase sei überhaupt nicht sicher nachgewiesen. Freudenreich und andere halten an der Existenz der proteolytischen Galaktase fest; jedenfalls dürfte ihre Menge geringer sein als Babcock und R. angenommen.

Neben der Galaktase kommen nach Randnitz[1]) (zum Teil von ihm selbst nachgewiesen) in der Milch noch folgende Enzyme vor: Superoxydase, Reduktase, Globulinoxydasen, Aldehydase, Amylase, Lipasen, Salolase. Neumann-Wender[2]) konstatierte, daß es wenigstens drei verschiedene Milchenzyme gebe: 1) das Milchtrypsin oder die Galaktase, besitzt proteolytische Eigenschaften, löst Kaseïn bei 40 ° C und wird bei 76 ° C

1) Chemie und Physiologie der Milch.
2) Oesterr. Chemiker-Zeitung. 1903. Heft 1.

unwirksam, 2) die Milchkatalase, besitzt die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, wird bei 80° C unwirksam, 3) die Milchperoxydase, eine Anaëroxydase, spaltet Sauerstoff aus Peroxyden ab und überträgt ihn auf oxydierbare Körper, wird bei 83° C unwirksam.

Vorläufig muß man zu dem Schlusse kommen, daß die Galaktase bei der Käsereifung nicht in Betracht kommt, und die Bombe, von der Prof. Fischer spricht, verwandelte sich in eine Seifenblase.

Die mehr oder minder feststehenden Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen über die Erreger der Hartkäsereifung lassen sich folgenderweise präzisieren:

1) Die eigentlichen Milchsäurebakterien vom Typus des Bact. lactis acidi (ovaler Coccus Freudenreichs) treten in Hartkäsen sehr bald in weit überwiegender Zahl auf[1]) und vermehren sich darin sehr lebhaft, bewirken aber allein keine Reifung (Freudenreich, Chodat und Hofmann-Bong, Boekhout und O. de Vries etc.). Sie leiten jedoch die Reifung ein und regulieren dieselbe, indem sie die Entwickelung verschiedener Bakterien unterdrücken und die Tätigkeit der proteolytischen eindämmen. (Nach den Untersuchungen von Harding an der Versuchsstation in Geneva u. a. sollen sie das Parakaseïn durch Bildung von einfach- und doppeltmilchsaurem Kaseïn für die Reifungsumwandlungen präparieren und das Pepsin des Labes in Wirksamkeit treten lassen).

2) Eigentliche Reifungserreger sind solche Bakterien, welche das Kaseïn mehr oder minder zu lösen und teilweise auch weiter umzuwandeln vermögen (ähnlich, wie dies bei der Trypsinverdauung geschieht). Als solche sind näher untersucht und geprüft:

a) Die im Naturlab vorkommenden milden Milchsäurefermente, die meist in Form von Langstäbchen auftreten: Freudenreichs Bacillus α, γ, δ, ε, die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien des Edamer Käses von Boekhout und O. de Vries. Alle diese Bakterien wirken nur schwach proteolytisch.

b) Der in Milch fast immer vorkommende „verflüssigende Micrococcus“ Freudenreichs, stärker proteolytisch als die vorigen, weniger Milchsäure produzierend.

c) Gewisse Tyrothrix-Arten, darunter auch Bacillus nobilis, kräftiger proteolytisch wirkend, nebenbei geringe Mengen Milchsäure erzeugend.

Genauere morphologische und physiologische Beschreibungen sind noch von keinem dieser Bakterien erschienen. Der Bacillus nobilis ist wahrscheinlich, wie andere Tyrothrix-Arten, zwischen Kartoffel- und Heubacillen zu stellen.

Es ist jedenfalls sehr merkwürdig, daß diese Bakteriengruppen neben proteolytischen Enzymen auch größere oder geringere Mengen von Milchsäure zu produzieren vermögen. Auch dadurch stellt sich die Milchsäuregärung als ein unterstützender Prozeß der bei der Käsereifung eigentümlichen Eiweißzersetzung dar. (Die Vermutung

1) Im Cheddarkäse fand Weinzierl 75 Proz. B. lactis acidi und Freudenreichs Bac. α, 22 Proz. B. acidi lactici (Gas produzierend) und sehr selten auch eine Tyrothrix-Art.

Gorinis, daß Bakterien aus der von ihm aufgestellten Treppe der „säure-labbildenden" für die Käsereifung von Wichtigkeit seien, steht dieser Anschauung sehr nahe).

Beachtet man dies, so verschwindet zum Teil der schroffe Gegensatz zwischen der Freudenreichschen und der Duclaux-Ametzschen Ansicht[1]). Es ist sehr wahrscheinlich, daß die verschiedenen genannten Bakterienarten zusammenwirken müssen und die Käsereifung als ein durch die Milchsäuregärung modifizierter proteolytischer Prozeß aufzufassen ist.

3) Das in der Milch vorkommende proteolytische Enzym Galaktase (Italics) bewirkt die Käsereifung nicht.

4) Das bei der Emmentaler Käserei verwendete „Naturlab" enthält anscheinend alle bei dieser Käserei notwendigen Reifungsfermente. Mischkulturen der aus demselben reingezüchteten Milchsäurefermente vermochten nicht die Reifung in demselben Grade hervorzurufen, wie das Naturlab selbst. Es weist also entweder die bakteriologische Analyse noch Lücken auf oder es wirkt ein bisher noch nicht bekanntes Ferment mit. Auf Rechnung der im Lab enthaltenen Pepsinmengen ist dies nach den Untersuchungen O. Jensens (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900) anscheinend nicht zu setzen. Zusätze von Pepsin hatten bei Hartkäsen nach Emmentaler Art keine merkliche Reifungsvermehrung zur Folge, wohl aber nach Babcock und Russell bei Cheddarkäsen und nach O. Jensen bei Backsteinkäsen, bei welchen anfangs die Säuerung ziemlich weit vorschreitet. Bei diesen Käsen verläuft der Reifungsprozeß, wenigstens im Anfang, als peptischer Prozeß, wie auch Slyke, Harding und Hart an der Versuchsstation in Geneva (1903) fanden, und dürfte das Pepsin des Labes bei der Reifung mitwirken.

Ein Trypsinzusatz hatte in den Versuchen Freudenreichs einen ganz auffallenden Einfluß auf die Beschleunigung der Reifung, und der Reifungsprozeß nimmt in den späteren Stadien, nachdem die Säure verschwunden ist, mehr den Charakter eines tryptischen Prozesses an.

5) Da innerhalb von 3 Tagen der Sauerstoff aus dem Käse verschwindet, so vermuten Boekhout und O. de Vries mit Recht, daß auch anaërobe Bakterien an der Reifung teilnehmen müssen. Tatsächlich sind nach Rodella (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1903 u. 1904) beispielsweise Buttersäurebakterien in fast allen Hartkäsen nachzuweisen und hat auch v. Klecki einen solchen Buttersäurebacillus näher studiert, der bei der Reifung des Quargelkäses eine Rolle spielt.

6) Ob bestimmte Bakterien dazu nötig sind, die spezifischen Geschmacks- und Geruchsstoffe zu erzeugen, wie Weigmann meint, muß vorläufig dahingestellt bleiben; es ist aber nicht unwahrscheinlich, daß die Reifungsbakterien, deren Zahl durch die in

---

1) Tatsächlich haben sich die Ansichten so weit genähert, daß Freudenreich behauptet, die spezifischen Käsemilchsäurebakterien spielen die Hauptrolle bei der Reifung, der verflüssigende Coccus unterstütze ihre Wirkung. Adametz und Weigmann dagegen schreiben den peptonisierenden Bakterien, darunter auch Bac. nobilis, die Haupt-, den Milchsäurebakterien nur eine vorbereitende und regulierende Rolle zu.

Punkt 2 aufgeführten nicht erschöpft zu sein braucht, die betreffenden Geschmacks- und Geruchsstoffe selbst produzieren, eventuell unter dem Einfluß bestimmter Faktoren, wie Milchsäuregärung, Temperatur, Wassergehalt, Salz etc. Das Verhalten des Bacillus nobilis macht dies sehr wahrscheinlich. Es erforderte dann die normale Reifung nicht die komplizierte Bakterienflora, die Weigmann annimmt.

7) Durch eine entsprechende Verlangsamung des proteolytischen Prozesses scheinen die Käse an Geschmack und Feinheit zu gewinnen und die Bildung von Eiweißzersetzungsprodukten (Amiden und Ammoniak) in bestimmten Grenzen gehalten zu werden. Verzögerungsmittel der Reifung sind: niedere Temperatur, größerer Milchzuckergehalt, intensive Milchsäuregärung, gewisse Enzyme der Milch, geringere Wassergehalt etc.

Bezüglich der zwei erstgenannten Reifungshemmungen liegen aus den letzten Jahren interessante Untersuchungen vor, und sie verdienen hier genauer besprochen zu werden.

Einfluß der Kälte auf die Käsereifung. S. M. Babcock, H. L. Russell, A. Vivian und U. S. Baer behaupteten auf Grund von 5-jährigen Versuchen, daß Cheddarkäse, bei Temperatur von 2—10° C (gleich nach dem Pressen in dieselben gebracht) einen besseren milden Geschmack und Teig bekommen als bei 15—18° C, allerdings werde die Reifung um einige Monate verzögert, dafür bleiben die Käse lange haltbar und verlieren weniger an Gewicht. Auf der Versuchsstation zu Geneva wurden von Slyke, Smith und Hart dieselben Beobachtungen gemacht. In Amerika sind bereits einige Kältereifungsstationen errichtet worden. Die Reifung kann beschleunigt werden, wenn zum Dicken etwas mehr Lab genommen wird, ohne daß hierdurch, wie bei höheren Temperaturen, der Geschmack beeinträchtigt wird. — Nach 14—17 Monaten fanden Babcock, Russell, Vivian und Baer in den betreffenden Käsen nur $^1/_3$ der löslichen Stickstoffsubstanzen, die sonst der Käse enthielt. Die Kälte bewirkte also eine Hemmung der Reifung und der Milchsäuregärung. Freudenreich (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902) hat die Aufsehen erregende, weil den bisherigen Vorstellungen von der Käsereifung zuwiderlaufende Beobachtung der Amerikaner überprüft, und zwar mit negativem Erfolge. Bei 4 kleinen Emmentaler Käsen, die bei Temperaturen von 5—7° C gehalten wurden, erreichte er nach 5 Monaten noch keine Reifung, nur eine ganz geringe bei einem Käse, der mit Bakterien (Bac. α, ε und Bact. lactis acidi, sowie verflüssigendem Coccus) geimpft und 24 Stunden bei höherer Temperatur gehalten war. In diesem Käse hat sich die lösliche Stickstoffsubstanz ganz erheblich vermehrt, und Freudenreich selbst setzt dies auf Rechnung des verflüssigenden Coccus, der in den ersten 24 Stunden Gelegenheit hatte, sich zu vermehren und Enzyme abzuscheiden. Auffallend war, daß sich das Bact. lactis acidi auch in der Kälte so stark vermehrt hatte, während die übrigen Milchsäurefermente und der verflüssigende Coccus sich nicht weiter entwickelt hatten. Neben der niedrigen Temperatur

hat auch die Ueberwucherung der Milchsäurebakterien das Gedeihen der Reifungsbakterien und damit auch die Reifung verhindert.

Beim Cheddarkäse liegen die Verhältnisse etwas anders. Derselbe wird aus leicht gesäuerter Milch bereitet und macht schon während der Bereitung vor dem Pressen eine mehrstündige Vergärung oder Vorreifung durch, während welcher Zeit sich die proteolytischen Bakterien genügend vermehren und Enzyme abscheiden können, wahrscheinlich auch intensivere Lösungsbakterien zur Geltung kommen.

Bekanntlich werden Emmenthaler Käse in den ersten 14 Tagen nach der Bereitung im kalten Salzraum bei 9—11° C gehalten und nach einem etwa 11-wöchentlichen Verweilen im Gärraum bei 18—22° wieder in kühlen Kellern bei 10—14° C gelagert. Eine durchaus kalte Lagerung läuft zweifelsohne der Natur dieser Käse entgegen und würde ihre Reifung schädlich beeinflussen.

Die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung. Ueber diesen Gegenstand haben zuerst Babcock und Russell im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902 eine Arbeit veröffentlicht. Sie stellten Käse aus ausgewaschenem Bruch her, setzten dann einigen derselben verschiedene Mengen von Glukose und Saccharose sowie Laktose zu und verglichen nun die Reifung dieser 2 Sorten Käse mit gewöhnlichen Cheddarkäsen, die gleichzeitig bereitet worden waren. Außerdem entfernten sie den Milchzucker aus Milch durch Dialyse und beobachteten die Aenderung in der Zersetzung dieser dialysierten Milch gegenüber gewöhnlicher. Die Ergebnisse dieser Versuche waren: 1) Die ausgewaschenen Käse zeigten schon nach 2 Monaten auffallende Fäulniserscheinungen, sie waren ungenießbar, flossen, hatten dabei aber einen faden Geschmack. 2) Auffallenderweise zeigte sich die Reifung derselben anfangs geringer als bei den Kontrollkäsen. 3) Bei der bakteriologischen Untersuchung enthielten sie eine große Menge verflüssigender Bakterien, während die Kontroll- und die wieder mit Zucker versetzten Käse meist nicht verflüssigende Arten aufwiesen. 4) Durch den Zusatz von 0,25 Proz. Zucker erhielten die Käse beinahe den Charakter der Kontrollkäse, nur reiften sie langsamer. Die Verff. schließen kurzweg, daß der Zucker durch die Veränderung der Bakterienflora für den Geschmack der Käse höchst wichtig sei, und daß Reifungs- und Geschmacksbildung zwei ganz getrennte Prozesse seien. Den letzteren Schluß darf man wohl als unbegründet bezeichnen. Es ist bekannt, daß der Zuckerzusatz das Verflüssigungsvermögen gewisser Bakterien außerordentlich hemmt (verflüssigende Bakterien auf Dextrosegelatineplatten verflüssigen wenig). Es wird also durch den Zucker, den die Bakterien als Kraftquelle benützen, ihr Stoffwechsel sich etwas anders gestalten und auch die Umsetzungen in der Käsemasse müssen Aenderungen erleiden. Für Punkt 2 und 4 geben die Verff. die Erklärung, daß durch das Auswaschen des Bruches auch die proteolytischen Enzyme (Galaktase und Pepsin) aus dem Käse entfernt worden seien und deshalb die Käse langsamer reiften. Dies kann aber ohne Mühe auch so gedeutet werden, daß mit dem Auswaschen die gelösten Eiweißstoffe (Albumin, Molkeneiweiß) aus

dem Käse entfernt wurden und infolgedessen beim ausgewaschenen Käse die Reifung anfangs langsamer vor sich ging. Der Zuckerzusatz bewirkte natürlich zugleich Hemmung der Proteolyse und man merkt, daß bei den ausgewaschenen Käsen ohne Zuckerzusatz zum Schlusse die Zersetzung in der Mehrzahl der Fälle weiter vorgeschritten ist. Die Ergebnisse lassen sich zwanglos auch ohne die Galaktasehypothese erklären.

Interessanter noch sind die Untersuchungen Freudenreichs über die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901). Er stellte 6 Versuchskäse aus ausgewaschenem Bruch her und setzte dreien 5 Proz. Milchzucker zu. Die ausgewaschenen Käse reiften viel rascher (enthielten die 2- und 3-fache Menge löslicher Stickstoffsubstanz), waren weicher und bitter. Der Milchzucker hatte an und für sich dann aber auch durch die Begünstigung der Milchsäuregärung stark hemmend auf die Reifung gewirkt. Als dem ausgewaschenen Käsebruch Kulturen von Tyrothrix-Bakterien (von Chodat in Genf aus Simmenthaler- und Greyerzerkäse isoliert) zugesetzt wurden, zeigten die Käse ebenfalls recht erhebliche Zersetzung des Kaseins, und zwar mit Naturlab mehr als mit Kunstlab und waren mit letzterem schlechter, bitter. Aus den Versuchen Freudenreichs ist dreierlei hervorzuheben:

1) Der Milchzucker ist nicht die Ursache der normalen Lochung des Emmentaler Käses, 2) er hemmt die Reifung besonders, wenn er in größerer Menge zugesetzt wird, 3) nicht ausgewaschene Tyrothrix-Käse zeigten eine sehr geringe Reifung gegenüber ausgewaschenen, und zwar ist dies bei Naturlab und Kunstlab fast ganz gleich und kann, wenn anders die Versuchskäse richtig behandelt werden, nicht nur auf die Tätigkeit von Milchsäurebakterien, sondern vielleicht auch auf Entwickelungshemmung der Bakterien durch Milchenzyme (bakterizide Eigenschaften der Milch) zurückgeführt werden. Vielleicht ist derselbe Umstand auch bei der geringeren Reifung der Kontrollkäse mitbestimmend gewesen.

Jedenfalls ergeben auch diese Versuche, daß die ungehemmte Entwickelung der proteolytischen Bakterien für den Geschmack und die Beschaffenheit der Käse nicht von Vorteil ist.

Die normale Lochung des Emmentaler Käses geht nach O. Jensen (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898) höchstwahrscheinlich in der Weise vor sich, daß die Käsereifungsbakterien bei der Zersetzung der Stickstoffsubstanz CO_2 entwickeln und die geringen Gasmengen durch die Spannungsverhältnisse im Käse an gewissen Stellen von gröster Plastizität gesammelt werden. Da der Milchzucker schon innerhalb von 3 Tagen aus dem Käse verschwindet, die Löcher aber frühestens in 8 Tagen entstehen und erst in 2–3 Monaten fertig gebildet sind, kann der Milchzucker hierbei nicht den Ausgangspunkt bilden, wie man bisher fast allgemein angenommen hat.

Damit ist die Lochung in einen engeren Zusammenhang mit der Reifung gebracht, wie es die Käsereipraxis schon immer tat, indem sie die Lochung als Maßstab für die richtige Reifung ansieht. Es muß aber hier doch des Umstandes gedacht werden,

daß die nicht gelochten (blinden und Gläsler-)Käse fast immer feine Käse sind und deshalb eine schöne Lochung nicht notgedrungen eine Begleiterscheinung der richtigen Reifung ist.

Bei Nisslerbildung und der Lochbildung in nicht hoch nachgewärmten Käsen (Edamer etc.) könnten nach O. Jensen die Milchsäurebakterien das Gas für die Lochbildung aus dem Milchzucker bilden.

Gewiß ist dies der Fall bei den Emmentaler Käsen, die schon unter der Presse gebläht werden, den sogenannten Preßlern, für welche Peter (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902) nachgewiesen hat, daß in ihnen B. aërogenes und B. coli stets in größerer Menge vorkommen und den Milchzucker lebhaft vergären. Die genannten Bakterien gelangen aus dem Kuhkot, namentlich bei Verdauungsstörungen der Kühe, aus unreinen Milchgeschirren, sowie durch altes, schlechtes Lab in größerer Menge in die Milch und veranlassen einen Käsefehler, gegen den die Fabrikationstechnik ziemlich machtlos ist. Wie der Käsefehler der nachträglich geblähten Käse entsteht, bleibt noch aufzuklären.

Die Chemie des Käsereifungsprozesses hat in den letzten Jahren insofern eine Bereicherung erfahren, als von Freudenreich und O. Jensen (Die Bedeutung der Milchsäurefermente etc. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900) unter den Zersetzungsprodukten des Kaseïns auch Lecithin (das übrigens immer in der Milch vorhanden ist) und Spuren von Glycerinphosphorsäure, von Steinegger (Die Salzsteinbildung etc. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901) das Lysin nachgewiesen wurden. Bezüglich des letzteren wurde schon früher von Weidmann, v. Benecke und Schulze, sowie von Bondzynski aus dem hohen Stickstoffgehalt der Eiweißzersetzungsprodukte die Anwesenheit eines ähnlichen stickstoffreichen Körpers vermutet. Das Lysin bildet einen Bestandteil der Salzsteine, die nach Steinegger aus Kochsalz, Kalk, Magnesia, Phosphorsäure, Tyrosin, Leucin, Lysin und freien Fettsäuren bestehen und als Konglomerate durch den Reifungsprozeß aus dem Kaseïn entstehen. Sie bilden sich hauptsächlich dann, wenn die Käse zu lange im Gärlokal belassen werden, also bei beschleunigter Reifung. Dabei wird die in den Käsen enthaltene Flüssigkeit allzureich an Eiweißzersetzungsprodukten und diese kristallisieren dann aus. Je höher der Käse nachgewärmt wird, desto leichter tritt der betreffende Konzentrationsgrad ein.

Die Versuche, welche St. mit vollgewichtigen Emmentalern diesbezüglich anstellte, scheinen diese Annahme zu bestätigen, und damit ist auch ein Mittel für die Abhilfe der unerwünschten Bildung der Salzsteine gegeben. Als ein weiteres Mittel schlug Steinegger einen Zusatz von Milchzucker vor. Damit wird natürlich eine Reifungshemmung erzielt und demgemäß eine geringere Abscheidung von Eiweißzersetzungsprodukten.

Schon früher hatte Adametz darauf aufmerksam gemacht, daß Bacillus nobilis auch in Milchkulturen solche körnige Ausscheidungen erzeuge. Er fand sie übereinstimmend mit den Körnchen in vielen älteren Emmentaler Käsen fast nur aus Tyrosin bestehend und sah darin die Tätigkeitsspuren der Tyro-

thrix-Arten im Emmentaler Käse. Da nun erfahrungsgemäß Käse mit nicht übermäßiger Salzsteinbildung fast immer sehr gute Käse sind, so können auch durch diese Erscheinung die Tyrothrix-Arten und speziell B. nobilis mit der erwünschten Käsereifung in Zusammenhang gebracht werden.

(Eine Besprechung der bisherigen Forschungen über die Weichkäsereifung gedenke ich in einigen Monaten folgen zu lassen.)

Literatur.

1) Adametz, Reift der Hartkäse gleichmäßig durch die ganze Masse oder von außen nach innen? (Oesterr. Molk.-Zeitung. 1899.)
2) —, Probeweise Verwendung von Reinkulturen eines Reifungs- und Aromabacillus des Emmentaler Käses. (Oesterr. Molk.-Zeitung. Bd. VI. 1900.)
3) —, Neuere Versuche größeren Maßstabes mit Reinkulturen des Bac. nobilis in der Käsereipraxis. (Oesterr. Molk.-Zeitung. Bd. VII. 1900.)
4) Babcock und Russell, Ueber die Ursachen der Reifung des Cheddarkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1897.)
5) — —, Galaktase, das der Milch eigentümliche proteolytische Ferment etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
6) — —, Relation of the enzymes of rennet to reepening of cheddar cheese. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
7) — —, Einfluß des Zuckers auf die Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902.)
8 Babcock, Russell, Vivian und Baer, Ueber die kalte Reifung des Cheddarkäses im 19. Jahresbericht der Universität für Wisconsin. (Referiert i. d. Milch-Zeitung. 1903. No. 46.)
9) Barthel, Chr., Untersuchungen über die Mikroorganismen der Stallluft, in der frisch gemolkenen Milch und im Euter der Kuh. (Milch-Zeitung. 1903. No. 40—42.)
10) Boekhout und O. de Vries, Untersuchungen über den Reifungsprozeß des Edamer Käses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
11) — —, Ueber die Reifung des Edamer Käses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901.)
12) Burri, Welchen Nutzen hat bis jetzt die Emmentalerkäserei aus der Bakteriologie gezogen etc. (Schweizer. landw. Centralbl. 1903.)
13) Fischer, Alfr., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.
14) Freudenreich, Ueber die Erreger der Reifung des Emmentaler Käses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898.)
15) —, Ueber die Beteiligung der Milchsäurebakterien an der Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1899.)
16) —, Reift der Hartkäse gleichmäßig durch die ganze Masse? (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
17) —, Ueber das in der Milch vorkommende unorganische Ferment Galaktase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
18) —, Ueber die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901.)
19) —, Ueber einige Versuche mit Tyrogen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901.)
20) —, Weitere Beiträge zur Käsereifung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901.)
21) —, Milchsäureferment und Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902.)
22) —, Einfluß niedriger Temperatur auf die Käsereifung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1903.)
23) —, Ueber das Vorkommen der Bakterien im Kuheuter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1903.)
24) Freudenreich und Jensen, O., Die Bedeutung der Milchsäurefermente für die Bildung von Eiweißzersetzungspräparaten im Emmentaler Käse etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
25) Freudenreich und Steinegger, Ueber die Verwendung von Kunstlabpräparaten bei der Käsefabrikation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1899.)
26) Freudenreich und Thöni, Ueber die in normaler Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehung zur Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1903.)
27) Gorini, Ueber die säure-labbildende Bakterien der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt II. 1902.)

28) Gorini, Sur la classification du lait au point de vue de la laiteria. (Revue générale du Lait III. 1904.)
29) Haacke, Paul, Beiträge zur Kenntnis von der Zersetzung des Milchzuckers. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902.)
30) Hamilton, G., Einiges über Herstellung von Käsen aus pasteurisierter Milch. (Milch-Zeitung. 1900.)
31) Harding, Bedeutung der Milchsäurebakterien für die Bereitung und anfängliche Reifung des Cheddarkäses. (Ber. No. 237 der Agricult. Experim. Stat. zu Geneva [New York], ref. i. d. Molk.-Zeitung. Berlin 1903. No. 51.)
32) Hillmann, Beiträge zur Kenntnis des Einflusses des Labfermentes auf die Eiweißstoffe der Milch.[Inaug.-Diss. 1895.] (Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1896.)
33) Jensen, O., Studien über die Lochbildung im Emmentaler Käse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898.)
34) —, Studien über Enzyme im Käse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
35) Klecki, Ueber den Reifungsprozeß der Käse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1896.)
36) —, Ein neuer Buttersäuregärungserreger (B. saccharobutyricus) und dessen Beziehung zur Lochung und Reifung des Quargelkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1896.)
37) Klein, J., Herstellung von Käsen aus hochgradig erhitzter Milch. (Milch-Zeitung. 1898. 1900. 1901.)
38) —, Erfolgreiche Milchwirtschaft. Berlin (Parey) 1902.)
39) Peter, Untersuchungen über geblähte Käse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902.)
40) Rodella, Antonio, Ueber das regelmäßige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaëroben Buttersäurebacillen im Hartkäse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1903 und 1904.)
41) du Roi, Versuche über die Herstellung von Käsen aus erhitzter Milch. (Landbote. 1901.)
42) Slyke, Harding und Hart, Das Labenzym in seinem Einfluß auf die Käsereifung. (Ber. No. 233. 1903 der Agr. Exp. St. in Geneva [New York]. Refer. i. d. Molk.-Zeitung. Berlin 1903. No. 51.)
43) Steinegger, Die Salzsteine etc. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901.)
44) Tiemann, Ueber die Herstellung von Hartkäsen aus pasteurisierter Milch etc. (Milch-Zeitung 1901.)
45) Troili-Petersson, Gerda, Ueber das Vorkommen und die Vermehrung der Tyrothrixarten im Emmentaler Käse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1902.)
46) Weigmann, Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete der Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1896.)
47) —, Ueber die Beteiligung der Milchsäurefermente an der Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898.)
48) —, Ueber zwei an der Käsereifung beteiligte Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898.)
49) —, Ueber den Anteil der Milchsäurebakterien an der Reifung der Käse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1899.)
50) Weinzierl, The bacterial flora of American cheddar cheese etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
15) Raudnitz und Basch, Chemie und Physiologie der Milch. Wiesbaden (Bergmann) 1903.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem physiologischen Laboratorium der österreichischen Versuchsstation für Brauindustrie in Wien; Vorsteher: Dr. H. Wichmann.

Zikes, Heinrich, Ueber den Einfluß verschiedener aus Wasser isolierter Bakterienarten auf Würze und

Bier. (Mitt. d. österr. Vers.-St. f. Brauind. Wien 1903. Heft 11. p. 20.)

Nach einer historischen Einleitung und einer tabellarischen Anführung sämtlicher bisher bekannter würze- und bierschädlichen Bakterien wendet sich Verf. seiner eigenen Arbeit zu.

Der Zweck derselben war, eine größere Anzahl von Wasserbakterien auf ihre Wirkungsweise gegen Würze und Bier zu studieren. Es wurden 165 Bakterienstämme teils aus Wasser selbst, teils aus durch Wasser infizierter Würze und Bier gesammelt und möglichst genau bestimmt. Hierzu dienten in der Regel 18 Bestimmungsglieder. Bei einzelnen Arten wurde auch noch auf andere Faktoren der Bestimmung zurückgegriffen, die sich von Fall zu Fall zu einer genaueren Identifizierung als notwendig erwiesen. Auf diese Weise gelang es festzustellen, daß 107 verschiedene Bakterienarten isoliert worden waren. Die Wirkungsweise derselben wurde auf Süßwürze, gehopfte Würze, gehopfte Würze unter gleichzeitiger Einsaat von Hefe und auf Bier, bei 10° und 25°, überprüft.

Die beiden Würzen waren 12-grädige Würzen, wie sie zur Herstellung von Wiener Lagerbier Verwendung finden. Das angewandte Bier wurde durch Vergärung einer 12-grädigen Bierwürze mit einer Reinhefe (Frohbergtypus) erhalten. Das Ergebnis der Zerstörung wurde stets nach einem Zeitraum von 14 Tagen festgestellt.

Die wichtigsten Resultate der Arbeit sind:

Die isolierten Sarcina- und Mikrokokkenstämme verhielten sich zumeist ganz indifferent sowohl gegen Würze wie gegen Bier. Auch die sporenbildenden Stäbchen griffen zumeist nur Süßwürze an; gehopfte Würze wurde nur von Bacillus erythrosporus und Bacillus turgescens zersetzt.

Die fluoreszierenden Arten erwiesen sich als sehr kräftige Würzezerstörer. Ein Stamm Bacterium minutissimum (var.) ist durch Bildung intensiv grüngefärbter Häute auf Gelatine, Bouillon, Süß- und gehopfter Würze ausgezeichnet und verleiht Süßwürze den Charakter kräftigster Fluoreszenz. Bei den Würzekulturen von Bacterium pyocyaneum wurde ein ganz auffallendes Lichterwerden der Nährsubstrate beobachtet. Verf. sucht diese Erscheinung auf optischem Wege dahin zu erklären, daß die gelbbraune Farbe der Würze allmählich durch die blaugrüne Farbe ausgeschiedenen Pyocyanins ausgelöscht wird. Die Zerstörung der Würzen ging bei den meisten dieser Fluoreszenten unter Haut- und Ringbildung, sowie unter starker Trübung der Flüssigkeit vor sich.

Unter den Pigmentbakterien zerstörten Bacterium janthinum, violaceum und coeruleum beide Würzen, Bacterium violaceum unter Bildung einer violetten, Bacterium janthinum unter Bildung einer gelblich grünen Haut. Ebenso zersetzte Bacterium prodigiosum beide Würzen und nahm erfolgreich den Konkurrenzkampf mit Hefe auf, wobei der rote Farbstoff, das Prodigiosin in beiden Würzen nur bei 10°, nicht aber bei 25° gebildet wird. Pigmentbakterien, welche durch Produktion gelber Farbstoffe cha-

rakterisiert sind, erwiesen sich hingegen als völlig harmlos, bis auf ein neues Bakterium, welches Bacterium setosum genannt wurde. Letzteres macht die Würzen fadenziehend.

Die übrigen Stäbchen, welche keine ausgesprochene Farbstoffbildung auf Gelatine und Agar erkennen ließen, wurden in 2 Gruppen unterschieden.

Die erste Gruppe umfaßt alle Mikroben, welche Gelatine verflüssigen. In dieser Gruppe sind die beiden Fäulniserreger Bacterium proteus vulgare und Bacterium vernicosum von größerer Wichtigkeit. Beide vermehren sich sowohl in Süß- wie gehopfter Würze und auch bei Anwesenheit von Hefe.

Die zweite und an Artenzahl umfangreichste Gruppe enthält alle Stäbchen, welche Peptongelatine nicht verflüssigen. Unter diesen verleihen Bacterium helicosum, gliscrogenum, lactis viscosum und viscosum der Würze eine schleimige oder fadenziehende Konsistenz. Alle übrigen hierher gehörenden Organismen zeigen weniger prägnant hervortretende Eigenschaften. Diese wurden wieder in zwei Unterabteilungen unterschieden, je nachdem sie in Traubenzuckerbouillon resp. -Agar, Gasbildung erzeugen oder nicht.

Alle Bakterien der ersten Art gehören zu den intensivsten Würzezerstörern, während aus der zweiten Unterabteilung nur wenige Organismen bei Gegenwart von Hefe weitergedeihen. Eine exzeptionelle Stellung nehmen hier nur Bacterium helicosum und ein dem Lindnerschen Termobaterium album nahestehendes Stäbchen ein, welche selbst in reifem Biere gedeihen.

Die untersuchten Vibrionen-, Spirillen- und Actinomyces-Arten erweisen sich bis auf Vibrio aquatilis fluorescens als wenig gefährlich.

Von Bacterium typhi und Vibrio cholerae wurde die Lebensfähigkeit einerseits in sterilem Biere, andererseits in frischem, schankreifen Biere festgestellt. In sterilem Biere erhielten sich die Typhuskeime bei 10°, 25° und 37° 14 Tage am Leben, die Cholerakeime bei 37° 6 Tage, bei 10° jedoch nur 3 Tage lebensfähig. In frischem Lagerbiere starben Choleravibrionen bei 37° bereits nach 10 Minuten, bei 25 und 10° nach 5 Minuten. Die Typhusbacillen hielten sich bei 37° 15 Minuten lang lebensfähig, bei 25 und 10° 5 Minuten lang. Aus dieser Versuchsanstellung ergibt sich, daß gewöhnliches reifes Bier gegen Cholera- wie gegen Typhuskeime sowohl durch seine Temperatur als auch namentlich durch seinen reichlichen Kohlensäure- und Alkoholgehalt in genügender Weise geschützt ist.

Als biervirulent erwiesen sich Bacterium helicosum n. sp., ferner eine Stäbchenart, welche mit Lindners Termobacterium album nahezu identisch ist, ein Stamm Bacterium fluorescens liquefaciens und ein Stamm Bacterium ranicida.

Von den untersuchten Organismen zerstörten Süßwürze bei 10° 50 Proz. bei 25° 73 Proz.; gehopfte Würze bei 10° 36 Proz.

bei 25° 44 Proz.; gehopfte Würze unter Hefeeinsaat bei 10° 15 Proz., bei 25° 28 Proz.; Bier bei 10° 2 Proz., bei 25° 4 Proz.

Zikes, Heinrich, Ueber die Einwirkung des Sonnenlichtes auf Glukose. (Mitt. d. österr. Vers.-St. f. Brauind. 1903. Heft 11. p. 10.)

Im Jahre 1896 machte Duclaux die Beobachtung, daß Glukose in steriler verdünnter Aetzkali- oder Aetznatronlösung im Sonnenlicht langsam in Alkohol und Kohlensäure zerfällt.

Bei weiteren Versuchen fand er, daß nach Ersatz der Kalilauge durch Barytwasser der Zerfall des Glukosemoleküles nicht bis zur Bildung von Alkohol und Kohlensäure gehe, sondern bei der Bildung der Milchsäure stehen bleibe. Er erklärt diesen Vorgang dahin, daß sich in diesem Falle die Produkte Alkohol und Kohlensäure nicht trennen, sondern beisammen bleiben und Milchsäure = Alkoholkohlensäure bilden.

Man kann sich daher den Vorgang in der Weise erklären, daß Glukose bei Gegenwart sowohl von Alkalien als alkalischen Erden immer Milchsäure gibt, daß bei Gegenwart von Baryt das gebildete Laktat keine weitere Zersetzung erleidet, wohl aber bei Gegenwart von Kali.

Verf. ist dieser Frage gleichfalls näher getreten, hat aber etwas abweichende Resultate erhalten. Es wurde einerseits Aetzkali zu 5 und 10 Proz., andererseits Aetzbaryt zu 5 Proz. in je 100 g 10 Proz. wässeriger steriler Glukoselösung gelöst.

Nachdem während zweier Jahre diese Lösungen in gutschließenden, mit Glasstöpsel versehenen 200 ccm-Flaschen der direkten Sonnenbestralung ausgesetzt worden waren, wurde der Flascheninhalt nach Feststellung der Sterilität chemisch untersucht.

Beim Lüften der Stöpsel erwiesen sich sämtliche Lösungen nicht mehr als geruchlos, wie zu Anfang des Versuches, sondern ließen ausnamslos einen angenehmen ätherischen Geruch entströmen. Bei der chemischen Untersuchung konnten in den mit Aetzkali beschickten Flaschen außer Alkohol noch Ameisensäure und Aldehyd in geringen Mengen nachgewiesen werden. In den Aetzbaryt enthaltenden Lösungen waren außer Milchsäure aber auch Alkohol neben geringen Mengen Ameisensäure und Aldehyd nachweisbar.

Nach diesem Ergebnis dürfte abweichend von Duclaux' Resultat bei den eingehaltenen Konzentrationsverhältnissen auch durch die Hydroxyde der alkalischen Erden aus Glukoselösungen unter Mitwirkung des Sonnenlichtes ein weiterer Abbau als bis zur Milchsäure erfolgen.

Bei Gegenwart von Kali oder Natron dürfte die an diese Basen gebundene Milchsäure unter dem zersetzenden Einfluß des Sonnenlichtes sehr bald in ihre Komponenten zerfallen, bei Gegenwart von Baryum und Calciumhydroxyd erst in viel größeren Zeitintervallen, so daß zu gewissen Zeiten Milchsäure, aber auch Alkohol zugegen ist. Der Versuch wird mit bedeutend größeren Flüssigkeitsmengen wiederholt werden.

Zikes, Heinrich, Zur Einführung eines neuen Nährbodens für gärungsphysiologische Arbeiten. (Mitt. d. österr. Vers.-Stat. f. Brauind., 1903. Heft 11. p. 13.)

Verfasser hat das durch Pressen aus Kartoffeln gewonnene Fruchtwasser mit oder ohne Zusatz verschiedener Säuren und anderer Stoffe zum Ausgang zahlreicher Versuche gewählt, bei welchen er einerseits das Wachsen von Hefen, andererseits die Unterdrückung und Abtötung von Spaltpilzen studieren konnte.

Wenn man die Analyse des Kartoffelwassers einer Beurteilung unterzieht, so ergibt sich, daß von den stickstoffhaltigen Substanzen der Kartoffel ein großer Prozentsatz im Fruchtwasser löslich ist und zu den für niedere Organismen leicht assimilierbaren gehört, daß aber auch im Fruchtwasser die leicht assimilierbaren Kohlenhydrate in Mengen zur Lösung kommen, mit welchen die verschiedenartigsten Blastomyceten ganz gut ihr Auslangen finden.

Bei der Anfertigung des Präparates dürfte übrigens ein gewisser Teil der vorgebildeten Polysaccharide auf dem Weg der Hydrolyse in Monosaccharide überführt werden und zur Vergrößerung des Nährstoffwertes beitragen. Bei den Züchtungsversuchen, welche Verfasser anfangs nur mit Sproßpilzen anstellte, wurde das Kartoffelwasser anfänglich als solches oder mit Zusatz von Gelatine verwendet, später wurden verschiedene Säuren (Weinsäure, Milchsäure) und anderer Stoffe (Benzaldehyd) in zunehmenden Dosen zugefügt, um kennen zu lernen, wie viel die Hefen bei kräftigstem Wachstum von diesen Substanzen ertragen können.

Bei der Einimpfung verschiedener Bakterienstämme in dieselben Nährmischungen konnte der Nachweis erbracht werden, daß einige dieser Nährböden nur mehr Hefen zur Entfaltung ihrer vollen Lebenstätigkeit entsprechen, während alle überprüften Bakterienarten mit verschwindend geringen Ausnahmen darin zu Grunde gehen.

Diese Nährböden ermöglichen es demnach leicht, aus einem Gemisch von Hefen und Bakterien die ersteren zu isolieren. Als ganz besonders wirksam erwies sich ein Zusatz von 1—2 Proz. Milchsäure. Die Hefen erlitten hierbei keine Schwächung, wie durch genau ausgeführte Gärversuche festgestellt werden konnte.

Dieser Kartoffelnährboden ist aber noch für andere Zwecke verwendbar. So konnte die Beobachtung gemacht werden, daß die Riesenkulturen einzelner Hefen auf diesem Nährboden oft wesentlich abweichen von den Kulturen derselben Hefen auf Würzegelatine. Er dürfte daher bei genauen Beschreibungen einzelner Hefen zur Erweiterung der Bestimmungsglieder nicht ohne Erfolg heranzuziehen sein. Autoreferat.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe[1]).

Von **H. Will.**

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

B. Die Erscheinungsformen der Riesenkolonieen.

I. Die Wachstumsform der Riesenkolonieen bei Aussaat von Bodensatzhefe.

b) Die herangewachsenen Riesenkolonieen.

Wachstumsform auf verschiedenen Substraten bei verschiedener Temperatur.

Im vorausgehenden Abschnitt wurde die Entwickelung des auf 10-proz. Würzegelatine aufgetragenen Hefetropfens zur Riesenkolonie eingehend behandelt und gezeigt, wie sich die Hefezellen vermehren, welche Zellformen allmählich auftreten und wie die Randpartie des Hefebelages auf der Gelatine, welcher anfangs keine besondere Gestaltung zeigt, früher oder später eine sehr charakteristische Ausbildung erhält.

Man kann, wie schon früher bemerkt, die Riesenkolonieen ebenso wie die Einzellkolonieen, welche auswachsen, mit Hefeinselchen auf der Flüssigkeitsoberfläche bei der Kahmhautbildung vergleichen.

In Beziehung auf die ersten Entwickelungsstadien der Riesenkolonieen glaube ich schon gewichtige Beweise für die Identität mit jüngeren Hefeinselchen beigebracht zu haben. Es wird Aufgabe der folgenden Ausführungen sein, nachzuweisen, daß auch in der zweiten Entwickelungsphase die gleichen charakteristischen morphologischen Elemente auftreten wie in älteren Kahmhäuten, um damit die Kette der Beweise für die Identität der Kahmhautbildung auf flüssigem und der Riesenkolonieen auf festem Substrat zu schließen.

Für die Weiterentwickelung der Riesenkolonie und die Formgestaltung, welche sie schließlich annimmt, ist im allgemeinen in erster Linie das Wachstum der einmal angelegten „Ströme“ und deren weitere Ausgestaltung von Bedeutung.

Bei dem Studium der ersten Entwickelungsstadien wurde nur die Wachstumsform auf 10-proz. Würzegelatine berücksichtigt. Die Wachstumsform wird aber von dem Substrat, auf welchem die Riesenkolonie wächst, nach zwei Richtungen hin beeinflußt. Erstens ist die Zusammensetzung der dargebotenen Nährlösung bestimmend, zweitens das Bindemittel, durch welches die gleiche Nährlösung in feste Form gebracht wird.

So verschiedenartig aber in einzelnen Fällen die Wachstumsform der gleichen Hefe auf verschiedenen Substraten zu sein

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. No. 11—13. p. 176–181, 193—198, 210—214. Mit 2 Tafeln. Vergl. d. Centralbl. Bd. I. 1895. p. 449. Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1899. p. 726; Bd. IX. 1902. p. 135.

scheint, so wird sie gleichwohl, wenigstens soweit meine Untersuchungen reichen, von dem gleichen Entwickelungsgesetz beherrscht.

Diese Gesetzmäßigkeit kommt, wenigstens für das erste und auch für spätere Entwickelungsstadien, am schärfsten auf der 10-proz. Würzegelatine zum Ausdruck.

Für die Erkennung und Deutung der zweiten Entwickelungsphase kann zwar die gewöhnliche 10-proz. Würzegelatine noch ausreichen, doch tritt dieselbe viel besser und übersichtlicher in die Erscheinung, wenn die Würze noch gewisse Zusätze erhält.

Die Temperatur übt bei den untersuchten vier Arten von untergäriger Bierhefe auf die Wachstumsform keinen wesentlichen Einfluß aus. Diese bleibt auf dem gleichen Substrat in den Hauptzügen bei allen Temperaturen, bei welchen die Riesenkolonieen der vier Hefen vergleichend untersucht wurden, die gleiche. Die Form der Riesenkolonieen war bis jetzt, also nach einer langen Reihe von Jahren, unter den gleichen Bedingungen, bei dem gleichen Aussaatmaterial und gleichmäßiger Behandlung desselben bei zahlreichen inzwischen wiederholten Untersuchungen, die auch von anderer Seite ausgeführt wurden, im wesentlichen immer wieder die gleiche.

Wir besitzen also in den Riesenkolonieen ein sehr beständiges und deshalb um so wertvolleres diagnostisches Merkmal.

A. Wachstumsform der Riesenkolonieen auf 10-proz. Würzegelatine bei Temperaturen von 20—9° C.

Die Kolonieen entwickeln sich bei 20° C und den benachbarten Temperaturen innerhalb der ersten 5 Tage genau so, wie im Abschnitt a [1]) angegeben.

Bei den niederen Temperaturen (12° und 9° C) erfährt das erste Entwickelungsstadium eine gewisse Modifikation, die in der Form der herangewachsenen Riesenkolonieen zur Geltung kommt. Im übrigen herrscht jedoch bezüglich des Ursprungs und der Entwickelung der Ströme vollständige Uebereinstimmung mit den bei höherer Temperatur wachsenden Kolonieen.

Im Gegensatz zu der Entwickelung bei höherer Temperatur erscheint die junge Riesenkolonie nicht in die Gelatine eingesenkt. Die Vermehrung der in dem aufgetragenen Tropfen enthaltenen Zellen erfolgt anfangs in einem flachen, horizontalen, über die Gelatineoberfläche weit hervorragenden Belag, der sich später in der Mitte etwas einsenkt.

Wie schon früher bemerkt, treten die Unterschiede in der Wachstumsform der Kolonieen in der Regel schon sehr frühzeitig hervor. Am 9. bis 10. Tag läßt eine Vergleichung der Kulturen schon sehr deutlich erkennen, daß Stamm 2 und 93 eine Gruppe und Stamm 6 mit 7 eine zweite bilden. Bei ersterer sind die Ströme ungeteilt, breit und wuchtig, bei letzterer geteilt, gelappt und flacher.

Stamm 2 und 93 sind kaum voneinander zu unterscheiden.

1) Vergl. d. Centralbl. Bd. IX. 1902. p. 138.

Trotz Uebereinstimmung im allgemeinen bestehen jedoch zwischen Stamm 6 und 7 schon zu dieser Zeit erkennbare geringe Unterschiede, indem bei Stamm 7 die Teilung der Ströme keine so vielfache und auch nicht so gleichmäßig tiefe wie bei Stamm 6 ist. Zuweilen sind die Ströme anfangs überhaupt nicht geteilt, sondern kompakt, ähnlich denjenigen von Stamm 2 und 93.

Bei niederer Temperatur ist das Wachstum der Riesenkolonieen naturgemäß ein langsameres und tritt dementsprechend die charakteristische Ausbildung der Randpartie auch später als bei höherer Temperatur auf.

Die Weiterentwickelung der Riesenkolonieen erfolgt bei allen geprüften Temperaturen, indem die rhizoidengleichen Anhänge der Unterseite über den Rand der Kolonie vorgreifen und dann eine neue Zuwachszone um denselben auf der Gelatineoberfläche entsteht.

Nach etwa 1 Monat wird es bei allen geprüften Temperaturen noch klarer, daß nach der Wachstumsform der Riesenkolonieen Stamm 2 und 93, die sich ja auch in so vielen anderen Beziehungen nahestehen, in einer Gruppe zu vereinigen sind. Eigentlich besteht kein Unterschied zwischen beiden Hefen, wenn die geringen graduellen Verschiedenheiten, die sich aber gleichmäßig bei beiden Hefenarten in den Parallelkulturen wiederholen und sich auf die Tiefe der Furchen und die mehr oder weniger höckerige Beschaffenheit der zentralen Partie beziehen, unberücksichtigt bleiben.

Die Ströme sind zwar gefurcht, aber nicht geteilt; alle Furchen sind gleichmäßig lang. Der Rand der Riesenkolonie zeigt infolgedessen auch, abgesehen von den geringen Einbuchtungen an der zwei Ströme trennenden Furche, einen ziemlich regelmäßigen Verlauf. Die Oberfläche der Ströme besitzt eine feine strahlenförmige Streifung, ist aber im übrigen glatt.

Die Farbe der Riesenkolonieen ist hellbräunlich-weiß (Hefefarbe).

Der Hefebelag ist trocken, nicht schleimig; er besitzt die Konsistenz von gepreßter Hefe.

Die Riesenkolonieen von Stamm 6 und 7 unterschieden sich von denjenigen der Hefen Stamm 2 und 93 dadurch, daß sie flacher ausgebreitet waren, das Wachstum also mehr in die Breite als in die Höhe ging.

Der Unterschied im Habitus der Kolonieen zwischen dieser Gruppe und derjenigen von Stamm 2 und 93 besteht darin, daß die sehr weit fächerförmig ausgebreiteten Ströme durch sehr tiefgehende Furchen eingeschnitten und voneinander getrennt sind. Die Peripherie der Kolonie erscheint infolgedessen auch sehr tief gebuchtet. Die Oberfläche der einzelnen Ströme selbst ist ebenfalls durch fächerförmig angeordnete tiefe Furchen von sehr verschiedener Länge zerteilt. Der Rand der Kolonie zeigt daher zwischen den tieferen Buchten der einzelnen Ströme auch keinen glatten Verlauf, sondern ist hier ebenfalls mäßig gebuchtet.

Wenn also in den Hauptzügen eine gewisse Uebereinstimmung zwischen den Riesenkolonieen von Stamm 6 und 7 besteht, so unterscheidet sich Stamm 6 doch schon in diesem Entwickelungsstadium von Stamm 7 dadurch, daß die Oberfläche der einzelnen

zwischen den Furchen sich hervorwölbenden Felder der Ströme ungemein fein gewellt erscheint, indem parallel mit dem Rand der Kolonie mehr oder weniger hohe Falten verlaufen, deren Kämme vielfach zerborsten sind. Die ganze Oberfläche der Riesenkolonie von Stamm 6 gewinnt hierdurch einige Aehnlichkeit mit den gekrößeartig gefalteten Mycodermahäuten. Die Aehnlichkeit wird um so größer, wenn, wie dies an einzelnen Stellen der Fall ist, die Oberfläche eine mattweiße Farbe annimmt. Im übrigen ist die Farbe der Kolonieen wie gewöhnlich hellbräunlich-weiß.

Die eigentümliche Oberflächengestaltung der Kolonien von Stamm 6 kommt offenbar in der Weise zustande, daß eine stärkere Vermehrung der oberflächlich gelegenen Zellen stattfindet.

Auch die zentrale Partie der Riesenkolonie ist gekräuselt.

Zuweilen zeigen die Riesenkolonieen von Stamm 6 in diesem Stadium ein doppeltes Gesicht, insofern als einzelne Partieen derselben, welche etwas mehr in die Gelatine eingesenkt sind, durch den Mangel der Kräuselung der Oberfläche mit den Riesenkolonieen von Stamm 7 übereinstimmen, während die übrigen in scharf ausgeprägter Weise die Kräuselung besitzen.

Die Oberfläche der Riesenkolonieen von Stamm 7 zeigt dagegen manchmal an einzelnen Stellen Andeutungen einer ähnlichen Ausbildung wie diejenige von Stamm 6.

Nach zahlreichen Beobachtungen auch an sehr alten Kulturen bleibt es jedoch bei diesen Andeutungen. Jedenfalls ist es wichtig, daß überhaupt bei Aussaat der Bodensatzhefe von Stamm 7 eine Kräußelung der Oberfläche zur Ausbildung gelangen kann.

Die Riesenkolonieen von Stamm 7 nähern sich durch diese Erscheinungen denjenigen von Stamm 6.

Zuweilen weisen einzelne der Ströme gewisse Anklänge an diejenigen von Stamm 2 und 93 auf.

Die zentrale Partie der Riesenkolonieen von Stamm 7 ist im Gegensatz zu derjenigen von Stamm 6 fast glatt.

In Beziehung auf die Beschaffenheit und Farbe des Hefebelags herrscht Uebereinstimmung mit Stamm 2 und 93.

Bei Temperaturen von 12—9° C entwickelten sich die Riesenkolonieen unter den gegebenen Verhältnissen in ganz vorzüglicher Weise und ohne irgendwelche Störungen.

Abgesehen von einigen Abweichungen im einzelnen, waren dieselben in der gleich charakteristischen Weise ausgebildet, wie die bei höherer Temperatur gewachsenen, insbesondere hinsichtlich der Form der Randpartie.

Eine scheinbare Abweichung besteht bei Stamm 2 und 93. Die zentrale Partie der Riesenkolonie ist nämlich nicht, wie bei den bei höherer Temperatur gewachsenen, eingesenkt, sondern sie erhebt sich mehr oder minder hoch über den Wall und birgt einen Hohlraum in sich. Der Umfang dieses Hohlraumes bedingt die stärkere oder geringere Erhebung der zentralen Partie.

Es sind also wohl einige abweichende Erscheinungen auf das Wachstum bei niederer Temperatur zurückzuführen, prinzipiell verschieden von den bei höherer Temperatur auftretenden sind sie jedoch nicht.

In Beziehung auf die Farbe der Kolonieen ist zu bemerken, daß sich Stamm 6 von den übrigen Hefen, deren Kolonieen die gewöhnliche Farbe besaßen, durch eine gleichmäßige, mattgrauweiße Färbung der Oberfläche unterschied.

Die Konsistenz der Riesenkolonieen ist auch hier diejenige von gepreßter Hefe; der Hefebelag ist trocken.

Im einzelnen sei hinsichtlich der Oberflächengestaltung der Riesenkolonieen folgendes angeführt.

Bei Stamm 2 zeigt zuweilen die Oberfläche des Walles eine warzige Beschaffenheit, ebenso wie in einzelnen Fällen diejenige der zentralen Partie. Bei höherer Temperatur ist eine solche selbst bei sehr alten Kulturen eben nur angedeutet. Zur stärkeren Entwickelung kommen ähnliche warzige Erhebungen nur bei Stamm 7.

Also auch hinsichtlich anscheinend ganz untergeordneter Merkmale, die jedoch entwickelungsgeschichtlich und für die Identifizierung der Riesenkolonieen mit den Kahmhautbildungen von Bedeutung sind, stimmen die bei 20° C und bei niederen Temperaturen gewachsenen Riesenkolonieen überein.

Aehnliche warzige Erhebungen entstehen in einzelnen Fällen auf dem Wall der Kolonieen von Stamm 93, doch sind sie, wenigstens nach den vorliegenden Beobachtungen, nicht so hoch als bei Stamm 2.

Die Riesenkolonieen von Stamm 6 und 7 sind auch bei den niederen Temperaturen von denjenigen der Hefen Stamm 2 und 93 dadurch verschieden, daß sie sich flach ausbreiten und daß infolgedessen die Dicke des Hefebelages eine verhältnismäßig geringere als bei Stamm 2 und 93 ist.

Im Habitus, in der Ausbildung der Randpartie stimmen einerseits die bei 12° C gewachsenen Riesenkolonieen vom Stamm 7 im allgemeinen mit den bei 9° C entwickelten überein, andererseits stehen aber beide in einem gewissen Gegensatz zu den bei 20° C innerhalb eines Monates auf dem gleichen Substrat gewachsenen. An letzteren ist in der Regel die wiederholte, fächerförmige Teilung der Ströme, welche für Stamm 7 ebenso wie für Stamm 6 charakteristisch ist, schon deutlich ausgeprägt, während bei den bei niederer Temperatur gewachsenen zuweilen nicht einmal die Ströme scharf zum Ausdruck kommen.

Die zentrale Partie der Riesenkolonieen von Stamm 7 ist ebenfalls hohl, jedoch ist die Höhlung nur von geringem Umfang. Die zentrale Partie erscheint infolgedessen hier noch vertieft.

Nach einer Beobachtungsdauer von $4^1/_2$ Monaten ergab sich, daß die Riesenkolonieen keine weiteren Fortschritte in Beziehung auf schärfere Ausbildung der Form gemacht hatten.

Bei Stamm 93 konnte eine kleine Aenderung insofern konstatiert werden, als sich auf der Oberseite der älteren Randpartie „kraterähnliche“, von einem klaren Schleim erfüllte Vertiefungen befanden, welche von einem niedrigen Wulst umgeben waren. Es sind dies die ersten Entwickelungsstadien der warzigen Erhebungen, deren Ausbildung auf dem Wall schon früher konstatiert worden war.

Bei Stamm 7 hatte auch trotz der längeren Beobachtungsdauer keine Annäherung an Stamm 6 stattgefunden.

Die Riesenkolonieen von Stamm 2 und 93 schließen sich wie viele andere untergärige Bierhefen dem Typus Frohberg, Stamm 6 dem Typus Saaz an [1]).

Die Riesenkolonieen von Stamm 6 und 7 gehören zwar dem gleichen Grundtypus an, sie weisen jedoch so viele Verschiedenheiten voneinander auf, daß man sie nicht zu einer einzigen Gruppe wird vereinigen dürfen. Dem Verhältnis zwischen den beiden Hefen, zwischen welchen auch sonst trotz ihrer vielen trennenden Eigenschaften eine nähere Beziehung unverkennbar besteht, dürfte wohl am besten dadurch Rechnung getragen werden, daß man die Riesenkolonieen als gleichwertige Untergruppen unter demselben Wachstumstypus zusammenfaßt.

Anatomischer Bau der ausgewachsenen Riesenkolonieen auf 10-proz. Würzegelatine.

Nach eingehender mikroskopischer Untersuchung sehr zahlreicher, bei den verschiedensten Temperaturen gewachsenen Riesenkolonieen ergiebt sich für den anatomischen Aufbau derselben im allgemeinen folgendes Bild.

Der Grundplan, nach welchem die bei Temperaturen zwischen 20° und 9° C gewachsenen Riesenkolonieen aufgebaut sind, erscheint bei allen vier Hefen in den Hauptzügen der gleiche. Hinsichtlich der Verteilung der überhaupt und in verschiedenen Entwickelungsstadien auftretenden Zellelemente besteht ebenfalls Uebereinstimmung.

In der zentralen Partie, welche dem ursprünglich auf die Gelatineoberfläche aufgetragenen Hefetropfen sowie den ersten Entwickelungsstadien der Riesenkolonieen entspricht und durch den Wall begrenzt wird, herrschen rundliche und ovale Zellen zu allen Zeiten vor. Auf der Unterseite derselben befinden sich die gleichen langgestreckten Zellelemente wie auf der Unterseite der Randpartie, wo sie in die warzigen und traubigen Anhänge übergehen. Später, in der zweiten Entwickelungsphase, treten innerhalb der zentralen Partie und nahe der Oberfläche derbe wurstförmige und anders geformte Zellen auf.

Die Randpartie der Kolonie, welche derselben das charakteristische Gepräge verleiht, besteht dagegen vorherrschend oder fast ausschließlich aus Sproßverbänden sehr langgestreckter, wurstförmiger Zellen (bis zu 30 μ), welche gleich Haarbildungen auf der Unterseite in rhizoidenartige Anhänge übergehen. Sie enthalten meist sehr viel Glykogen. Häufig sind in den Anhängen diese Zellen durch breite (fast dem Durchmesser des Zelllumens gleich) Querwände voneinander getrennt. Die Zellverbände fallen da, wo diese breiten Querwände fehlen, leicht auseinander, halten aber im übrigen sehr fest zusammen [2]).

---

1) Lindner, P., Das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden. Wochenschr. f. Brauerei. 1893. No. 27. Tafel I u. II. — Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. 1903. Tafel III.

2) Eine strenge Grenze zwischen Sproßmycelien und gewöhnlichen Mycelien ist hier ebensowenig zu ziehen wie bei den in der zweiten Entwickelungsphase der Riesenkolonieen an der Oberfläche der zentralen Partie auftretenden wurstförmigen Zellen.

Diese durch ihre Zellelemente gut charakterisierte Schicht kann gegenüber der oberflächlich gelegenen als Mark bezeichnet werden.

Die Oberseite der Randpartie, die als Rindenschicht bezeichnet sein mag, ist aus rundlichen bis ovalen, überhaupt aus Zellelementen gedrungenerer Form zusammengesetzt, deren charakteristisches Merkmal ein großer Reichtum an Oelkörperchen ist, welche sich ähnlich wie diejenigen der Dauerzellen und der zartwandigen rundlichen Zellen im Hefering mit konzentrierter Schwefelsäure zunächst graugrün bis braungrün und schließlich blauschwarz färben. Soweit meine Untersuchungen reichen, scheinen die Zellen der Rindenschicht durch allmähliche Uebergänge mit den übrigen, die Ströme aufbauenden Zellelementen nicht verbunden zu sein.

Innerhalb dieses allgemeinen Schemas treten nun bei den einzelnen Hefen mehrfache Variationen auf, die sich wesentlich auf die Häufigkeit der verschiedenen Zellelemente beziehen und eine befriedigende Erklärung für den mehr oder minder scharf ausgeprägten Charakter der Randpartie der Riesenkolonieen geben. Bezüglich der Einzelheiten muß hier auf die Originalmitteilung verwiesen werden, in welcher dieselben ausführlich dargelegt sind. Es ist jedenfalls von höchstem Interesse, daß diese Variationen ihre Analogie in den Kahmhautbildungen auf Flüssigkeiten wiederfinden [1]).

Nach einem Monat besaßen viele Zellen in der zentralen Partie der bei 20° C gewachsenen Kolonieen von Stamm 2 und 93 nach ihrem reichen Gehalt an Glykogen und Oelkörperchen, welche sich mit konzentrierter Schwefelsäure in der oben angegebenen Weise färbten, große Aehnlichkeit mit Dauerzellen. Viel schärfer ausgesprochen war dies bei Stamm 6 der Fall.

Bei Stamm 7 fanden sich unter den rundlichen Zellen ebenfalls solche mit sehr starker Membran, aber mit homogenem Inhalt und sehr wenigen stark lichtbrechenden Körperchen. Die Zellen besaßen also Aehnlichkeit mit den bei Stamm 7 als Dauerformen gedeuteten Zellen (vergl. Abschnitt V: Die Dauerzellen. A. Zeitschr. ges. Brauw. XVIII. 1895. p. 217).

---

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich bemerken, daß auch heute noch die Saccharomyceten vielfach als einzellige Pilze bezeichnet werden. (Vergl. beispielsweise auch das bekannte Buch von Klöcker, Die Gärungsorganismen. p. 202. Vergl. ferner die kritischen Bemerkungen bei Zopf, Die Pilze. Breslau (Trewendt) 1890. p. 411.) Es ist bei der verhältnismäßig geringen Zahl von genauer untersuchten Saccharomyceten zurzeit noch ungemein schwierig, wenn nicht unmöglich, eine alle Gattungen umfassende Diagnose aufzustellen.

Nach meiner Anschauung würde sich dieselbe in folgender Richtung bewegen:

Saccharomyceten: Sproßmycelien bis echte Mycelien, bilden auf geeigneten festen Nährböden (mit Pflanzenextrakten) ein Stroma von mehr oder weniger charakteristischer Form und Oberflächengestaltung mit Rinden- und Markschicht (in verschiedenem Grade abgestuft). Haarartige Gebilde in Form von Zotten, vorherrschend als Rhizoiden. Auf flüssigen Nährböden entwickeln sich die Zellelemente des Stromas in Form von Häuten.

Dauerzellen (Chlamydosporen).

Endosporen (ob in bestimmter Schicht des Stromas und als Produkt eines rudimentären Sexualaktes?).

In gärfähigen Nährlösungen vorherrschend kurzgliedrige Sproßmycelien, welche leicht auseinanderfallen (biologisch und technisch wichtige Anpassungsform).

Nach $2^1/_2$ Monaten waren die Dauerzellen viel schärfer ausgeprägt.

Als charakteristische Erscheinung für die Dauerzellen wurde früher festgestellt, daß bei der Keimung erstens gleichzeitig eine größere Anzahl von Tochterzellen auftritt, und weiter, daß nicht selten die keulenförmigen Tochterzellen durch eine Querwand in zwei gleiche oder ungleiche Hälften geteilt werden, daß überhaupt bei den aus Dauerzellen hervorgegangenen Tochterzellen und deren Nachkommen häufig Querwände innerhalb der Zellen auftreten.

Damit auch diese Stütze für die Gegenwart von Dauerzellen in der zentralen Partie der Riesenkolonieen und von Kahmhautzellen 2. Generation, welche den Dauerzellen ihren Ursprung verdanken, nicht fehle, wurden große, mit dem Charakter der Dauerformen ausgerüstete Zellen beobachtet, welche eine Tochterzelle mit Querwand hervorgebracht hatten. Außerdem fand sich in Sproßverbänden meist keulenförmiger Zellen fast in allen Gliedern derselben Querwandbildung vor. Sogar isolierte mycelfadenartige Zellen mit Querwandbildung wurden sehr vereinzelt angetroffen.

Von Interesse war auch die Beobachtung, daß zwei typische Dauerzellen infolge sehr starker Membranverdickung durch ein kurzes, zartes Zwischenglied, mit welchem sie ausgekeimt hatten, verbunden waren. Gleiche Keimungserscheinungen waren schon früher bei typischen, sehr starkwandigen Dauerzellen nicht selten beobachtet worden.

Zellen mit sehr stark verdickter Membran, an welcher eine äußere Schicht in verschiedenem Grade (bis zur völligen Ablösung — ineinander geschachtelte „Zellen“ —) abgelöst war, kamen sehr häufig vor.

Bezüglich der Zusammensetzung der zentralen Partie der bei niederen Temperaturen gewachsenen Riesenkolonieen herrscht in den Hauptzügen völlige Uebereinstimmung mit den bei höherer Temperatur entwickelten. Es sind also sowohl Dauerzellen wie die aus denselben hervorgehenden wurst- und mycelfadenartigen Zellen vorhanden.

Bezüglich der „Schleimkrater“ sei folgendes bemerkt. Entnimmt man beispielsweise die Oberfläche der Riesenkolonieen von Stamm 2, da wo sich die Schleimkrater befinden, vorsichtig mit der Nadel Präparate und überträgt dieselben, ohne sie zu zerteilen, in einen Wassertropfen, so erhält man ein Netzwerk derber, wurst- und mycelfadenartiger Zellen, die in Sproßverbänden vereinigt sind. Unter diese Zellformen mischen sich noch andere, wie birn- und keulenförmige. Die Bilder, welche man erhält, sind denjenigen in Präparaten aus der Oberseite des Heferinges älterer Würzekulturen zum Verwechseln ähnlich.

Der Charakter der derben, wurst- etc. förmigen Zellen ist, wenngleich die Längendimensionen vielfach mit denjenigen der in den ersten Entwickelungsstadien der Riesenkolonieen aufgetretenen und auch in der Randpartie vorherrschenden wurstförmigen Zellen übereinstimmen, ein vollständig anderer als bei diesen. Der direkte Vergleich läßt die Unterschiede sehr deutlich hervortreten. Die Zellen der Randpartie sind offenbar zarter, schlanker; der an Gly-

kogen reiche Inhalt ist homogener, von wenigen Vakuolen durchsetzt. Die wurstförmigen Zellen der Oberfläche mit derberer Membran enthalten dagegen große Vakuolen, das an Glykogen reiche Plasma ist von ziemlich viel Oelkörperchen wie bei den Kahmhautzellen 2. Generation durchsetzt. Kurz, die Zellen rufen nach jeder Richtung hin den Eindruck von Kahmhautzellen 2. Generation hervor. Die Bilder, welche man erhält, decken sich vollständig mit denjenigen alter Kahmhautkulturen.

Bemerkenswert ist es jedenfalls, daß die Oberfläche der zentralen Partie, welche früher vorherrschend aus rundlichen Zellen bestand, in diesem Stadium fast ausschließlich aus den Sproßverbänden der derben wurst- etc. förmigen Zellen wie im Hefering alter Würzekulturen zusammengesetzt ist.

Die Auffassung, daß in den beschriebenen Zellen Kahmhautzellen 2. Generation vorliegen, erhält eine wesentliche Stütze durch die Abstammung derselben.

In sehr auffälliger Weise liegen in dem Netzwerk der Sproßverbände große, meist rundliche, aber auch ovale Zellen mit sehr derber Membran. Die Dimensionen dieser Zellen bewegen sich zwischen 9 und 16 μ. Der Inhalt ist meist durch eine große Vakuole sehr reduziert. Da, wo der Inhalt noch reichlicher ist, enthält derselbe sehr viele Oelkörperchen und auch in der Regel reichlich Glykogen.

Aehnliche Zellen von den angegebenen Dimensionen kommen auch in alten Kahmhäuten und im Hefering von Würzekulturen vor.

Sehr häufig wurden nun derartige Zellen beobachtet, an welchen bis zu 5 mycelartige Zellen hervorgesproßt waren. Aus anderen Zellen waren Verbände wurstförmiger Zellen (über 30 μ lang) entstanden. In einem anderen Falle wurde eine dauerzellenähnliche große Zelle gefunden, welche keimschlauchartigen derben Zellen von etwa 50 μ Länge bei 5—6 μ Querdurchmesser den Ursprung gegeben hatten. In einzelnen Fällen wurden mycelfadenartige Zellen von über 60 μ mit Seitenzweigen von etwa 40 μ gefunden.

In vielen Fällen konnte die Abstammung größerer isolierter Sproßverbände wurstförmiger Zellen aus den beschriebenen großen rundlichen oder ovalen Zellen nachgewiesen werden. Aus den als Dauerformen angedeuteten Zellen entsproßten aber auch Tochterzellen der verschiedensten Form.

Größenverhältnisse, wie sie oben angegeben sind, wurden bisher niemals bei den wurstförmigen schlanken Zellen der Randpartie und der Unterseite, sowie in den rhizoidengleichen Anhängen beobachtet, dagegen regelmäßig in alten Kahmhäuten und im Hefering.

Aehnliche Verhältnisse wurden in den Schleimkratern der anderen Hefen angetroffen.

Nach zahlreichen und eingehenden Beobachtungen dürfte es also kaum mehr einem Zweifel unterliegen, daß in den geschilderten Zellen ein neues Element in dem Aufbau der Riesenkolonieen eintritt, ein Element, das sich in gleicher Weise wie in den Riesenkolonieen auch in den Kahmhäuten und im Hefering von Würzekulturen in einem späteren Stadium, der zweiten Entwickelungsphase

der Kahmhäute ebenso wie der Einzellkulturen, vorfindet, nachdem zuerst die Dauerzellen aufgetreten waren.

Auf die zwei Typen in der Form der rhizoidengleichen Anhänge, den „warzigen“ und den „traubigen“, ist bereits in dem Abschnitt VI, B. Ia (vergl. Zeitschr. ges. Brauwesen. XXV. 1902. p. 266) hingewiesen worden. Schon in einem sehr frühen Stadium der Entwickelung der Riesenkolonieen tritt nach der Ausbildung der Anhänge eine Scheidung zwischen Stamm 6 einerseits und Stamm 2 und 93 andererseits ein. Stamm 7 beansprucht eine besondere Stellung insofern, als die Anhänge lange Zeit die Wachstumsform wie bei Stamm 2 und 93 zeigen können, bei älteren Kolonieen gehen sie aber, sobald die Randpartie ähnlich wie bei Stamm 6 gelappt erscheint, zum Typus des Stamm 6 über.

Dieser Uebergang von dem einen Typus zum anderen steht offenbar mit dem Auftreten langgestreckter, wurstförmiger Zellen in größerer Zahl bis zu einem gewissen Grad zusammen, ebenso wie der Uebergang der einfachen Ströme in gelappte. Typisch traubige Anhänge bei Stamm 7 bestehen ausschließlich aus Sproßverbänden langgestreckt wurstförmiger Zellen (gemessen bis zu 25 μ Länge).

Solange die Anhänge nur Warzenform besitzen, sind sie ebenso wie die einfachen Ströme aus Zellen sehr verschiedener Form und Größe zusammengesetzt. Die kleinen ovalen Zellen zeigen allerdings eine Neigung zur Streckung, es kommen auch einzelne nahezu wurstförmige Zellen (11—12 μ Längsdurchmesser) vor, im Vergleich zu denjenigen der anderen drei Hefen erscheinen sie jedoch kurz gedrungen; Zellen von der Länge wie bei Stamm 2 und 93 fanden sich niemals.

Durch eine Verschiedenheit der die Anhänge zusammensetzenden Zellformen allein kann diese Verschiedenheit der Anhänge nicht bedingt sein.

Bei Stamm 2 und 93 bestehen die Anhänge ebenfalls aus wurstförmigen Zellen von hervorragend schöner Ausbildung ohne irgendwelche Beimengungen von anderen Zellformen, und trotzdem ist die Ausbildung der Anhänge eine andere als bei Stamm 6 und 7. Wenn die Zellen offenbar auch die gleiche Funktion, die Zufuhr von Nahrung aus dem Substrat zu dem mit demselben nicht direkt in Berührung befindlichen Hefebelag ausüben, so muß doch die Natur derselben bei Stamm 2 und 93 eine andere als bei Stamm 6 und 7 sein.

Die rhizoidenähnlichen Anhänge der Unterseite nehmen vom Rand der ausgewachsenen Riesenkolonie bis in die Gegend unterhalb des Walles zentripetal an Größe zu.

In scharf ausgeprägtem Gegensatz zu den langgestreckten Zellen, welche die Randpartie der Riesenkolonieen im Innern aufbauen, stehen die Zellen der Oberflächenschichten, insbesondere bei Stamm 2, 6 und 93, und zwar nach zwei Richtungen hin: erstens durch ihren reichen Gehalt an Oelkörperchen neben sehr viel Glykogen, und zweitens durch die viel gedrungenere Form.

Die Zellen der Oberflächenschichten sind, wie schon wiederholt bemerkt, den in großer Anzahl in den Kahmhäuten, insbesondere

aber im Hefering auftretenden nach Form und Inhalt sehr ähnlich. Sie gleichen bis zu einem gewissen Grade auch nach ihrem Glykogengehalt den Dauerzellen, unterscheiden sich von diesen aber durch ihre relativ schwächere Membran. In den ungemein zahlreichen Präparaten, welche ich durchgesehen habe, wurde niemals die Ablösung einer Hautschicht wie bei den als Dauerzellen gedeuteten Zellen der zentralen Partie beobachtet. Ein weiterer Unterschied besteht im allgemeinen auch hinsichtlich ihres Gehaltes an Oelkörperchen, der meist — eine Ausnahme hiervon macht z. B. Stamm 6 — nicht so reich ist wie bei den Dauerzellen. Häufig treten in den Zellen umfangreiche Vakuolen auf.

Die Unterschiede gegenüber den Dauerzellen sind also nur graduelle.

Die Lage der Zellen in Verbindung mit der besonderen Beschaffenheit des Inhaltes drängt die Anschauung auf, daß diese Zellen zu einer besonderen Funktion für die Gesamtheit der übrigen die Riesenkolonieen aufbauenden Elemente differenziert sind [1]).

Zwischen den Riesenkolonieen auf festem Substrat und den Kahmhautbildungen auf Flüssigkeiten besteht also bezüglich der sie aufbauenden Zellelemente und deren Abstammung nicht nur in den ersten, sondern auch in den späteren Stadien völlige Uebereinstimmung.

Die auffällige Uebereinstimmung bildet aber nur eine um so kräftigere Stütze für die Anschauung, daß die Kahmhautbildung und die Riesenkolonieen identisch sind.

Aus dem Institut für Bodenlehre und Pflanzenbau der landwirtschaftlichen Akademie Bonn-Poppelsdorf.

Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem (Poppelsdorfer) Versuchsfelde [2]).

Von Prof. Dr. **F. Wohltmann,** Geh. Reg.-Rat, Dr. **H. Fischer** und Dr. **Ph. Schneider.**

Seit dem Herbst 1891 ist auf dem Versuchsfelde von W. ein „spezifischer Düngungsversuch" eingerichtet [3]), der in folgendem besteht:

Von einem 10 × 17 Quadrate enthaltenden Teil des Versuchsfeldes ist jeder der 10 Längsstreifen mit einer anderen Frucht be-

1) Es ist gewiß beachtenswert, daß, soweit mir bekannt, auch bei allen in Form von Häuten auf der Kulturflüssigkeit wachsenden Saccharomyceten, wie beispielsweise bei S. anomalus, sowie bei den zur Gruppe Mycoderma und Torula gehörigen Pilzformen, große Oelkörperchen, wenn auch nur in beschränkter Zahl, vorhanden sind. Bekanntlich bilden dieselben einen sehr charakteristischen Bestandteil des Zellinhaltes. Möglicherweise stehen die Oelkörperchen in Beziehung zur Atmung.

2) Originalarbeit im Journal für Landwirtschaft. 1904. p. 97—126.

3) Vgl. Wohltmann, F., Chilisalpeter oder Ammoniak? Berlin (Parey) 1903.

stellt, in jährlichem Wechsel; jeder der 17 Querstreifen erhält eine andere Behandlung betr. Düngung.

Die Fruchtfolge ist:

1) Zuckerrüben,
2) Sommergerste,
3) Bohnen oder Erbsen,
4) Wintergerste,
5) Kartoffeln,
6) Mais,
7) Hafer mit Rotklee,
8) Rotklee, ohne Düngung!
9) Winterraps,
10) Winterroggen.

Es erhielt an Dünger:

I Stallmistdüngung,
II blieb gänzlich ungedüngt,
III Aetzkalk,
IV Magnesia,
V Doppelsuperphosphat,
VI Kainit,
VII Kalk + Magnesia + Phosphat + Kainit,
VIII Kalk + Phosphat,
XI Kalk + Kainit,
X Magnesia + Kainit,
XI Phosphat + Kainit,
XII Chilisalpeter,
XIII Ammonsulfat,
XIV Kalk + Magnesia + Phosphat + Kainit + Chilisalpeter,
XV Kalk + Chilisalpeter,
XVI Phosphat + Chilisalpeter,
XVII Kainit + Chilisalpeter.

Quantität und Zeit der Düngung wurden in der sonst üblichen Weise bemessen.

Der Boden des Versuchsfeldes, schwerer alluvialer Lehmboden von recht mittelmäßiger Bonität, hat unter dem Einfluß der verschiedenen Behandlung sich, wie zu erwarten, beträchtlich verändert, was zum Teil deutlich ins Auge fällt: Kalk und Stallmist haben auftreibend gewirkt, Kali und Chilisalpeter den Boden noch bindiger gemacht, die ersteren Streifen treten sichtlich hervor, die letzteren sind eingesunken, u. s. w. Eine Prüfung mittels Lackmus zeigte, daß alle Böden, die Ca oder Mg erhalten hatten, deutlich alkalisch reagieren, neutral sind I, VI, XI, XII, XVI, XVII, dagegen II, V und XIII sehr schwach sauer.

Es war zu erwarten, daß in den so verschiedenen Bodenverhältnissen sich auch bestimmte bakterielle Zustände herausgebildet haben würden, welche zu untersuchen der Zweck der vorliegenden Arbeit ist; es konnte nur erst ein Teil der Fragen in Angriff genommen werden, weitere Untersuchungen sollen folgen, das Versuchsfeld bietet dazu noch reichlich Material.

Zunächst wurden 3 Haupteigenschaften des Bodens in Frage gezogen, die gleichen, die Remy[1]) seinen Studien zu Grunde gelegt hat: die relative Fäulniskraft, die Nitrifikations- und die Denitrifikationskraft der in jedem Streifen vorhandenen Bakterienflora.

Die Untersuchungen wurden teils mit Flüssigkeiten in Erlenmeyer-Kölbchen, die mit den abgewogenen, mittels Fränkelschen Bohrers in 10 cm Tiefe gewonnenen Bodenproben geimpft wurden, teils auch mit Erdboden in Zinkkübeln angestellt. Alle Versuchsreihen wurden doppelt hergerichtet; der Erfolg zeigte, daß die Parallelkulturen mit sehr wenigen Ausnahmen übereinstimmende Resultate lieferten.

1) Remy, Th., Bodenbakteriologische Studien. (Dieses Centralblatt. Abt. II. Bd. VIII.)

Die Fäulniskraft wurde an einer 1-proz. Peptonlösung (weißes, sehr reines, fast völlig ammoniakfreies Präparat von Witte) geprüft mittels je 10 g Boden in 100 ccm sterilisierter Flüssigkeit; die Menge des in Ammoniakstickstoff umgesetzten Peptonstickstoffs wurde durch Destillation mit Magnesia usta bestimmt. Die ersten Versuche waren bei ungünstig hohen Temperaturen angestellt, verliefen daher zu rasch und gaben nur verhältnismäßig geringe Unterschiede; solche traten deutlich hervor an einer bei 18° gehaltenen Reihe; nach Ablauf von 3 Tagen waren von Prozenten des Peptonstickstoffs in Ammoniakstickstoff umgewandelt (die Parzellen in der Reihenfolge der Intensität):

VII	28,2	XV	21,7	XII	16,9
IX	25,4	X	20,8	VI	16,6
III	25,1	XVI	20,0	V	16,3
XIV	24,8	XI	19,7	II	15,8
VIII	24,2	I	18,9	XIII	13,5
IV	23,1	XVII	18,0		

Ein Vergleich mit dem eingangs gegebenen Verzeichnis der Düngungen zeigt, daß die Kalkbeete ganz ausgesprochen die Führung haben, am schwächsten sind Ungedüngt und Ammonsulfat.

In einem zweiten ähnlichen Versuch war die Umsetzung am 3. Tage weit weniger vorgeschritten, ob infolge der wenig späteren Jahreszeit oder aus welchen anderen Ursachen, ist fraglich. Die Reihenfolge war im wesentlichen der ersten ähnlich, ausnahmsweise überragte hier Streifen IV, Magnesia, alle anderen:

IV	12,23	XV	8,54	XVI	6,83
VII	11,66	X	8,54	V	6,54
VIII	11,10	XI	7,68	II	6,26
XIV	11,10	I	7,40	XII	5,97
IX	10,80	XVII	7,40	XIII	4,84
III	10,53	VI	6,83		

Ein nur mit 5 der 17 Böden in etwas anderer Form angestellter Versuch — 100 g des frischen Bodens wurden mit 10 ccm 5-proz. Peptonlösung befeuchtet und nach 45 Stunden analysiert — lieferte ein entsprechendes Ergebnis:

III 33,83, I 28,42, V 21,59, VI 19,91, XIII 17,13.

Die Nitrifikation wurde in ähnlicher Weise geprüft; nach längerer Einwirkung von je 10 g Boden auf 100 ccm Omeliansky-scher Ammonsulfatlösung wurde mittels Metaphenylendiaminchlorhydrat die Intensität der Nitritreaktion, später mit Nesslerschem Reagens das Verschwinden der Ammoniakreaktion bestimmt. Die Prüfung ergab nach 34 Tagen eine mittlere Nitritreaktion bei III, VII, VIII, IX, XIV, XV, XVII, schwache bei I, IV, X, XVI, Spur bei II, keine bei V, VI, XI, XII, XIII. Nach 49 Tagen war starke Nitritreaktion vorhanden bei III, IV, XIV, XV, mäßig starke bei V, VII, VIII, IX, X, XVII, mittlere bei I, II, VI, XII, XIII, XVI, schwache bei XI.

Nach 77 Tagen war die Ammoniakreaktion verschwunden bei I, III, VII, XII, XIV, noch schwach vorhanden bei VIII, IX, X, XV, XVI, XVII, stärker bei II, noch stärker bei IV, XI, noch

sehr intensiv bei V, VI, XIII; nach 82 Tagen zeigten nur V und VI noch schwache Reaktion, in allen anderen Kölbchen war sie verschwunden.

Ein zweiter, gleicher Versuch stimmte gut mit dem ersten überein, nur Streifen XII, Chilisalpeter, zeigte eine weit schwächere Nitrifikation als im ersten Fall; genannter Stoff wirkt im Verein mit anderen Düngern anscheinend sehr fördernd auf das Nitrifikationsvermögen, am stärksten aber auch hier der Kalk und demnächst Magnesia — zweifellos durch Bindung der entstehenden Säure.

Um vergleichbare Analysenzahlen zu gewinnen, wurde ein weiterer Versuch in der Weise angesetzt, daß je 2 kg der 17 Böden (in doppelter Versuchsreihe) in Zinkgefäßen mit 25 ccm $^1/_1$ n. Ammoniaklösung = 350 mg N bezw. mit 25 ccm destillierten Wassers vermischt wurden; beide Reihen wurden dann nach 50 Tagen auf Salpeterstickstoff nach Ulsch analysiert. Es resultieren sehr weit voneinander abweichende, mit den ersteren Ergebnissen aber vortrefflich übereinstimmende Zahlen; es waren Prozente vom Ammoniakstickstoff zu Salpeterstickstoff oxydiert:

VIII	85,3	XIV	64,3	XIII	23,0
III	84,7	X	43,4	V	22,5
IX	82,1	XVI	41,4	VI	17,8
XV	80,6	XVII	40,8	XI	17,8
VII	77,4	I	36,1	II	14,1
IV	69,6	XII	31,9		

Also auch hier das Ueberwiegen der Kalkbeete; der Sprung von XIV mit 64,3 Proz. auf die nächstniederen Zahlen ist besonders auffallend.

Wie sehr die Intensität der Nitrifikation in Beziehung zur Ausnützung oder Verlust des Bodenstickstoffs steht, lehrte eine auf den Gesamtstickstoff der 17 Böden unternommene Analyse; der Gehalt an Stickstoff verlief ziemlich genau umgekehrt zur Energie der Salpeterbildung; die Reihenfolge war hier:

XI	0,1046	X	0,0984	IX	0,0850
XIII	0,1046	VI	0,0912	IV	0,0836
XII	0,1035	XIV	0,0912	VII	0,0810
XVI	0,1025	XV	0,0902	III	0,0799
XVII	0,1020	V	0,0881	VIII	0,0768
I	0,1004	II	0,0881		

Die Zahlen geben den Prozentgehalt an Stickstoff im lufttrockenen Boden.

Ueber den Gehalt der Böden an Ammoniakstickstoff gab eine weitere Analyse die folgende Auskunft:

V	1,37	XVI	0,84	XII	0,42
XI	1,05	IV	0,73	IX	0,38
X	1,01	XIII	0,68	XIV	0,32
VI	0,96	XVII	0,63	XV	0,32
II	0,95	III	0,53	VII	0,11
I	0,84	VIII	0,38		

Die Zahlen geben die in 100 g Boden enthaltenen Milligramm.

Auffallend ist die besonders hohe Zahl der nur mit Superphosphat gedüngten Parzelle.

Für das Studium der *Denitrifikation* wurden je 50 ccm *Giltayscher* Salpeterlösung, mit Zucker und Natriumcitrat als organischen Nährstoffen, mit 5 g Bodens geimpft, dann täglich zweimal mittels Metaphenylendiaminchlorhydrat und mittels Diphenylamin + Schwefelsäure auf Nitrit bezw. Nitrat geprüft; die Nitritreaktion war verschwunden:

nach $3^{1}/_{2}$ Tagen bei III, IV, VIII, IX,
„ 4 „ „ I, VII, XIV, XV, XVI, XVII,
„ $4^{1}/_{2}$ „ „ II, X, XII,
„ 5 „ „ V,
„ 6 „ „ XI, XIII,
„ 7 „ „ VI.

Zahlenmäßige Belege, wie in den vorigen Analysen, konnten für die Denitrifikation nicht gefunden werden. Obige Versuchsanstellung gab nur über die Umwandlung der Nitrate, nicht über die viel wichtigere Frage nach dem stattgehabten Stickstoffverlust Auskunft; dafür angestellte Versuche haben bisher deutliche Unterschiede nicht erkennen lassen: nach 8 Tagen betrug der Gesamtverlust an Stickstoff in allen Kölbchen 63—64 Proz., war also sehr annähernd gleich.

Für unseren spezifischen Düngungsversuch ergibt sich also die Tatsache, daß von allen Stoffen der Kalk ganz besonders anregend auf *alle* Bakterientätigkeit wirkt, schwächer die Magnesia, Stalldung zeigte stets gute Mittelwerte; schwach waren stets der ungedüngte und der mit Ammoniak gedüngte Streifen, auch die mit Phosphor, Kali oder mit beiden gedüngten Parzellen stehen in der Reihe mehr oder weniger am Ende.

Die relative Löslichkeit der im Boden vorhandenen Kali- und Phosphorverbindungen wurde ebenfalls durch die 17 Streifen geprüft. Es zeigte sich, daß in denjenigen Parzellen, die die reichste Bakterientätigkeit aufzuweisen hatten, also in erster Linie in den mit Kalk gedüngten, auch die Löslichkeit jener beiden Stoffe beträchtlich erhöht war.

Die Menge der in kalter Salzsäure löslichen Phosphorsäure zeigte keine sehr großen Unterschiede, wohl aber die Löslichkeit in Zitronensäure; wir verzichten hier auf Angabe sämtlicher Zahlen und geben nur die Reihenfolge und die Endwerte:

III (0,0371), VII, VIII, XIV, XV, IX, XVI, I, V, X, XI, XVII, IV, II, VI, XIII, XII (0,0130).

Die Wirkung des Kalkes übertrifft hier ganz besonders die — kaum hervortretende — der Magnesia.

Die Prüfung auf in Salzsäure lösliches Kali ließ ebenfalls eine Wirkung der Kalkdüngung deutlich erkennen, doch waren auch die mit Kainit ohne Kalk gedüngten Beete reich an löslichem Kali, so daß die Wirkung hier nicht so ausgesprochen zu Tage tritt, wie bei der Phosphorsäure; die Löslichkeit in kochender Chlorammoniumlösung bestätigte, daß die Kalidüngung auch ohne Kalk im stande ist, leicht aufnehmbare Kaliverbindungen zu liefern.

Ob in den letzteren beiden Punkten die reichere Bakterientätigkeit Ursache oder Wirkung der leichten Löslichkeit des Phosphors und des Kalis war, bleibt dahingestellt.

Die wichtigsten Analysenergebnisse sind in einer Kurventafel übersichtlich graphisch dargestellt; leider ist die Tafel aus „technischen Gründen" nicht ganz so hergestellt worden, wie es wünschenswert war. Hugo Fischer (Bonn).

Referate.

Chlopin, G. W. und **Tammann, G.**, Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen. (Westnik obschestwenoy gigieny. 1903. August.) [Russisch].

— —, Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XLV. 1903. p. 171.)

Die mit den verschiedensten pathogenen und saprophytischen Bakterien angestellten Versuche ergaben: 1) Drucke bis zu 3000 kg pro 1 qcm ab 2904 Atmosphären töten weder Bakterien, Schimmelpilze noch Hefe.

2) Eine einmalige schnelle, aber gleichmäßige Drucksteigerung bis zu 3000 kg und eine ebenso ausgeführte Erniedrigung des Druckes üben auf Mikroorganismen nur einen schwachen Einfluß aus.

3) Eine 6-malige schnelle, aber gleichmäßige Druckänderung bis 3000 kg übt einen stark lähmenden Einfluß auf Mikroorganismen aus. Es wäre noch die Wirkung von starken Druckstößen zu untersuchen.

4) Die Wirkung eines konstanten Druckes von 2000 bezw. 3000 kg ist proportional der Zeit der Druckwirkung und proportional der Höhe des Druckes. Die lähmende Wirkung des Druckes steigt gewöhnlich mit der Temperatur.

5) Die lähmende Wirkung des Druckes äußerst sich: a) in Schwächung der Bewegungen, b) in Verlangsamung oder Verlust der Fähigkeit, sich zu vermehren, c) in Verlangsamung oder Verlust der Fähigkeit, typische Reaktionen zu vollziehen, z. B. Gärung zu erzeugen bei Hefe und B. coli commune, oder Pigmente zu bilden bei B. prodigiosus oder Sarcina rosea, und d) in Schwächung der Virulenz bei B. anthracis (sporentragende Form) und B. typhi murium.

6) Die Druckwirkung ist bei den Mikroorganismen eine ganz individuelle. Man kann dieselben in dieser Beziehung in 3 Gruppen teilen: a) sehr empfindliche Mikroorganismen wie B. pyocyaneus, V. cholerae, V. Finkleri und B. pneumoniae croup., b) Mikroorganismen mittlerer Resistenzfähigkeit wie B. coli communis, B. typhi abdominalis, Microc. agilis, Staphyloc. aureus, B. tuberculosis hominis, B. pseudotuberculosis, Sarcina rosea, B. typhi murium, B. prodigiosus und c) außerordentlich widerstandsfähige Mikroorganismen, vor allem Pseudodiphtheriebacillus, B. anthracis, einige Mikroben aus Srohinfus, Oidium lactis und Hefe.

Von der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Mikroben Drucksteigerungen gegenüber wäre nach Meinung der Verff. vielleicht bei der Analyse komplizierter Mikrobengemenge Gebrauch zu machen. Am wichtigsten erscheint aber das Resultat, daß die Virulenz pathogener Mikroorganismen durch Wirkung des Druckes geschwächt und vernichtet werden kann, woraus sich möglicherweise ein neuer Weg zur Herstellung von Impfflüssigkeiten ergibt.

Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Molisch, Hans, Photographieen im Bakterienlichte. („Deutsche Arbeit", Monatsschrift für das geistige Leben der Deutschen in Böhmen. München und Prag, G. D. W. Callwey. Jahrg. III. Heft 1. Oktober 1903. p. 66—71. Mit 2 Tafeln.)

Kurze Wiedergabe der in den Sitzungsberichten der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien 1903 veröffentlichten Arbeit des Verf., betitelt: „Bakterienlicht und photographische Platte". Die Tafeln bringen uns Reproduktionen von Photographieen, hergestellt im Bakterienlichte: 1) Kolonieen des Micrococcus phosphoreus im Eigenlichte, 2) ältere und jüngere Kolonieen im Eigenlichte, 3) Bakterienlampe des Verf. im Eigenlichte, 4) Stichkultur, 5) Schillerbüste aus weißem Porzellan, 6) Thermometer, 7) Titelblatt eines Werkes. Die 8. Figur zeigt die Photographie einer Eichenholzquerscheibe, dadurch erhalten, daß die Scheibe auf die lichtempfindliche Platte gelegt wurde. Die aus dem Holze abdunstenden flüchtigen Stoffe sind es, welche das Bromsilber angreifen. Nähere Untersuchungen dieser merkwürdigen Stoffe wären sehr erwünscht.

Matouschek (Reichenberg).

Lindner, P., Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde, mit besonderer Berücksichtigung der biologischen Betriebskontrolle. 111 Tafeln mit 418 Einzelbildern. Berlin (Paul Parey) 1903. 19 M.

Wie die vor kurzem in 3. Auflage erschienene „Mikroskopische Betriebskontrolle in dem Gärungsgewerbe", ist auch das vorliegende Abbildungswerk in erster Linie für den Praktiker berechnet und muß als wertvolle Ergänzung des genannten Buches betrachtet werden.

Tafel 1 und 2 bringt zunächst die Wiedergabe einiger Testobjekte aus der Familie der Bacillariaceen, denen sich auf den Tafeln 3—28 Bilder von Wasserorganismen, wie sie im freien Wasser, in Abwässern, Reservoiren und Berieselungskondensatoren häufig vorkommen, anschließen. Vor allem sind es Süßwasserlagen und Schizophyten die in natürlichen Gemeinschaften dargestellt sind. Die Tafeln 8—12 sind der Anatomie und Entwickelung der Gerste gewidmet. Tafel 13 enthält Bilder von Gersten-, Weizen- und Roggenstärke und die Veränderungen derselben durch Diastasewirkung bei der Keimung. Tafel 14—17 zeigt die Einwirkung der Maischtemperaturen auf Gerstenstärke; es folgen einige Bilder über Myxomyceten und Amöben, die auf Gerste und Hafer vorkommen, sowie Kornmotte und einzelne anatomische Bilder der Kartoffel, denen sich wiederum die verschiedenen Stärkesorten ansschließen. Auch der Hopfen wird auf den Tafeln 25 und 26 in seinen wichtigeren Einzelheiten abgebildet.

Einen weiten Raum (Tafel 26—45) nehmen Photogramme von Schimmelpilzen ein, an die sich die Hefen (bis Tafel 89) und Bakterien (bis Tafel 106) anschließen. Auf den letzten 5 Tafeln finden wir Essigfliegen, Aelchen und andere tierische Objekte abgebildet. Die Auswahl der Präparate, sowie die Ausführung der Photographieen und deren Wiedergabe sind fast durchweg ausgezeichnet. Der Praktiker, für den das Buch in erster Linie berechnet ist, wird in vielen Fragen sich orientieren können, der Botaniker aber wird ersehen, wieviele Anforderungen der Praxis noch der Lösung harren. Recht muß man dem Verf. geben, wenn er es beklagt, daß bei den wissenschaftlichen Beschreibungen von Organismen so wenig Sorgfalt auf gute bildliche Darstellungen verwendet wird; um so mehr aber muß man ein Werk wie das vorliegende begrüßen. Dabei kommt vor allen Dingen den Bildern zu statten, daß sie nach lebenden Objekten aufgenommen sind und daß die Organismen nicht willkürlich auf die Glasplatte verteilt sind, sondern in ihrer natürlichen Gruppierung verblieben.

Neu für ein wissenschaftliches Buch ist die Einführung von Kennworten. Da nicht alle dargestellten und in den Gärungsbetrieben vorkommenden Objekte wissenschaftlich genügend bekannt sind, so ist jedem Bilde ein Kennwort beigegeben, dessen Anwendung eine Verständigung erleichtert. Die Worte sind, ähnlich wie bei den Telegrammworten der Zeissschen Kataloge, so gewählt, daß überall Einschaltungen möglich sind. In der Tat sollen die Worte den Bildern auch für spätere Auflagen verbleiben und jedes neu hinzukommende Bild ein neues Wort erhalten. In Fällen, in denen ein Werk den verschiedensten Interessentenkreisen dient, ist gewiß dieses System praktisch, hoffentlich bürgert es sich aber nicht auch in rein wissenschaftlichen Werken ein. Appel (Dahlem).

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. VIII. Nachtrag. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. p. 269—271.)

Verf. hat mit dem vorliegenden Nachtrag die im Jahre 1886 begonnene Versuchsreihe über die Lebensdauer getrockneter Bierhefe zum Abschluß gebracht. Die mit Zusatz von Asbest konservierte Hefe, welche bei der wiederholten Prüfung im Jahre 1902 allein noch lebens- und entwickelungsfähige Zellen, und zwar ausschließlich solche von wilder Hefe enthalten hatte, enthielt solche auch noch im Jahre 1903, also nach 17 Jahren und 3 Monaten, wenn auch anscheinend nur mehr an sehr geringer Zahl. Diese Lebensfähigkeit erscheint dadurch noch in einem besonderen Lichte, wenn berücksichtigt wird, daß die ursprünglich zu dem Versuch verwendete Betriebshefe jedenfalls nur in geringem Grade mit wilder Hefe verunreinigt war. Offenbar konnte von dieser kein so hoher Prozentsatz der Zellen, wie bei der in überwiegender Zahl vorhandenen Kulturhefe abgestorben sein.

Zum Schluß werden noch einmal die bei der wiederholten Prüfung der verschiedenen Konserven erhaltenen Resultate zusammengefaßt; die wilden Hefen zeigten auch hier eine viel größere Lebensfähigkeit und Lebensdauer als die Kulturhefen. Außer den in den

Hefenzellen selbst gelegenen Art- und Rasseeigenschaften, sowie dem physiologischen Zustand, in welchem sich die Zellen bei der Anfertigung der Konserven befinden, spielen noch äußere Faktoren in Beziehung auf die Lebensdauer getrockneter Hefe bezw. bei der Herstellung der Hefekonserven eine wichtige Rolle. Vor allem kommt die Natur der Beimengungen zur Hefe in Betracht. Gips, sowie Kieselguhr haben sich als weniger günstig für die Erhaltung der getrockneten Hefe erwiesen als Holzstoff, Asbest und insbesondere Holzkohle. Niedere, um 0° sich bewegende Temperatur erhöht die Lebensdauer, höhere verkürzt dieselbe. Ebenso erhöht Abschluß der Luft und ein verhältnismäßig niedriger, größeren Schwankungen durch äußere Einflüsse nicht ausgesetzter Wassergehalt die Lebensdauer. Von maßgebendem Einfluß ist auch die Art und Weise, wie das Trocknen der Hefe durchgeführt wird.

Autoreferat.

Mazé, P., Quelques nouvelles races de levures de lactose. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. p. 11.)

Die Milchzucker vergärenden Hefen sind nicht so selten, wie aus den Angaben der Literatur hervorzugehen scheint. Verf. macht darauf aufmerksam, daß z. B. die Weichkäse im allgemeinen als Fundgrube für solche Hefen anzusehen sind. Es ist ihm gelungen, in kurzer Zeit aus einer Reihe verschiedener Käsearten 11 Stämme sogenannter Laktosehefen zu isolieren. Die vergleichende Untersuchung dieser Stämme unter teilweiser Heranziehung der seinerzeit von Duclaux, Adametz und Kayser isolierten und beschriebenen Rassen bildet den Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Als Kulturflüssigkeit für die Gärungsversuche diente ein Gemisch von gleichen Teilen von „Bouillon Martin“ [1]) und einer mit 1 °/₀₀ Ammoniumphosphat versetzten Milchzuckerlösung bestimmter Konzentration. Diese Flüssigkeit wurde, um auch die geringste Inversion des Milchzuckers zu vermeiden, nicht durch Wärme, sondern mittels Filtration durch Chamberland-Kerzen sterilisiert, Bei einer ersten Versuchsserie, bei welcher der Milchzuckergehalt des Nährbodens 10 Proz. betrug, sind die verschiedenen Laktosehefen einmal in die durch Sodazusatz schwach alkalisch gemachte (0,3 $^0/_{00}$ NaOH entsprechend), einmal in die mittels Milchsäure schwach gesäuerte (0,773 H_2SO_4 entsprechend) Flüssigkeit ausgesät worden. Zur Aussaat diente je 1 ccm einer in voller Gärung begriffenen Kultur. Nach Verlauf von 11 bezw. 12 Tagen wurde die Bestimmung der Gesamtsäure (in $^0/_{00}$ H_2SO_4 ausgedrückt) und des Alkohols (in Volumprozenten) vorgenommen. Die Resultate der beiden Reihen sind nicht sehr verschieden. Im alkalischen Nährboden hat naturgemäß die Gesamtsäure einen entsprechend niedrigeren Grad erreicht als im ursprünglich schon sauren Medium. Im letzteren ist auch die Alkoholausbeute durchschnittlich etwas geringer als in ersterem, doch sind die Differenzen unbedeutend. Für das saure Medium schwanken sie zwischen 2,50 und 4,93, für das alkalische zwischen 3,666 und 4,75 Volum-

1) Ueber die Herstellung dieses Nährbodens vergl. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. p. 26.

prozenten. Als unter Beibehaltung des sauren Nährbodens der Laktosegehalt auf 15 Proz. gesteigert wurde, traten bezüglich der Alkoholproduktion zwischen den einzelnen Stämmen größere Unterschiede auf. Die betreffenden Werte bewegen sich zwischen 3,00 und 7,87 Volumprozenten. Allerdings ist dabei, wie Verf. bemerkt, zu berücksichtigen, daß diese Alkoholmengen in den verschiedenen Kulturen durch verschieden große Gewichtsmengen von Hefe produziert worden sind, und wenn man die Vergleichung auf der Basis des einheitlichen Hefengewichtes vornimmt, so stehen sich doch die einzelnen Stämme in der Gärleistung näher, als es bei oberflächlicher Betrachtung scheinen möchte.

Die erwähnte Versuchsreihe, bei welcher die Nährflüssigkeit 15 Proz. eines von Inversionsprodukten freien Laktosepräparates enthielt, hat auch zu einer Untersuchung des Gärrückstandes hinsichtlich der in Frage kommenden Zuckerarten Anlaß gegeben. In sämtlichen Kulturen fanden sich, nachdem die Gärung zum Stillstand gekommen war, noch beträchtliche Mengen, immerhin nur in 6 Fällen mehr als 1 Proz. Glukose und meist geringe, in 5 Fällen sogar überhaupt nicht nachweisbare Mengen von Galaktose. Sämtliche Stämme, mit Ausnahme von No. 2, bei welchem weniger Glukose als Galaktose in der Flüssigkeit zurückgeblieben war, ziehen also offenbar die Galaktose der Glukose vor.

In Bezug auf das Verhalten der verschiedenen Hefestämme gegenüber den verbreitetsten Zuckerarten konnte Verf. feststellen, daß die Maltose der Bierwürze, der Rohrzucker, der Invertzucker und, wie zu erwarten, Dextrose und Lävulose einzeln als Gärmaterial gereicht, in Alkohol und Kohlensäure gespalten werden. Nur die Hefe 3 hat ein besonderes und auffallendes Verhalten gezeigt. Sie vergärt nämlich weder Saccharose noch Maltose noch Invertzucker und dementsprechend auch nicht Dextrose und Lävulose einzeln gereicht. Ganz unberührt bleiben allerdings diese Zuckerarten in den Nährlösungen nicht; zwar fehlt jede sichtbare Gasbildung, doch wird immer etwas Alkohol gebildet, so z. B. in Nährlösungen, die 5 Proz. Dextrose oder Lävulose enthalten, während 14 Tagen 0,6 bezw. 0,57 Volumprozent. Bemerkenswert ist nun, daß bei gleichzeitiger Darreichung von 10 Proz. Laktose ganz beträchtliche Dextrosemengen bezw. Lävulosemengen durch Gärung zum Verschwinden gebracht werden, wie ja übrigens auch die aus der Laktose durch die Laktase abgespaltene Dextrose wenigstens teilweise vergärt. Man kann nun annehmen, daß entweder die Zymase der Laktosehefen die Fähigkeit besitzt, sowohl Dextrose als Galaktose in Alkohol und Kohlensäure zu spalten, oder daß der Hefe 2 Zymasen zur Verfügung stehen, von denen die eine Dextrose, die andere Galaktose spaltet. Das eigentümliche Verhalten der Hefe 3 ist nach Verf. nur durch die Annahme einer Dextro-Zymase neben einer Galakto-Zymase zu erklären. Da Galaktose für diese Hefe, wie überhaupt für die Laktosehefen, ein sehr guter Nährstoff ist, so findet unter dem Einfluß derselben auch eine lebhafte Enzymproduktion statt; in erster Linie wird Galakto-Zymase gebildet, sodann aber auch Dextro-Zymase, wenn Dextrose vorhanden, was ja bei Vergärung der

Laktose regelmäßig der Fall ist. In Abwesenheit der Galaktose kommt es aber bei Hefe 3 nicht zur Bildung wesentlicher Mengen von Dextro-Zymase und daher die kümmerliche Gärtätigkeit von Kulturen, die nur Dextrose enthalten.

Verf. hat mit den 14 Hefestämmen auch Untersuchungen hinsichtlich des sogenannten kulturellen Verhaltens angestellt und dabei den Eindruck bekommen, daß die für die einzelnen Stämme erhalfenen Merkmale im allgemeinen von geringer Konstanz sind. Das wird namentlich für die Kulturen in flüssigen Medien gelten. Unter den festen Nährböden hat sich für Differenzierungszwecke ein mit neutraler Bohnenabkochung bereiteter Agar unter Zusatz von 3 Proz. Saccharese besonders günstig gezeigt. Mehrere Stämme wuchsen darauf mit ausgesprochen rötlicher Farbe. Mit Hilfe des Mikroskopes war nicht viel zu Gunsten einer scharfen Trennung einzelner Stämme herauszubringen. Ein einziger unter ihnen, No. 5, entwickelte bei 26° C auf dem Gipsblock Sporen.

Zum Schlusse streift Verf. kurz die Frage der Bedeutung der Laktosehefen für die Weichkäse, in welchen sie anscheinend häufig zu treffen sind. Er glaubt, daß ihre Tätigkeit bei der Zerlegung der geringen Mengen von Milchzucker, die nach dem Abtropfen im Käse zurückbleiben, kaum in Betracht kommt, indem die Milchsäurebakterien hier schnell und energisch eingreifen. Vielmehr wird man hier zu untersuchen haben, ob die Laktosehefen nicht bei der Entstehung gewisscr Bukettstoffe in den genannten Käsen beteiligt sind, um so mehr da sie den Kulturmedien gewöhnlich einen angenehmen Geruch verleihen. Burri (Zürich).

Janssens et **Mertens**, Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose. (La cellule. T. XX. Fasc. 2. p. 353—368. 2 planches.)

Die Verff. untersuchen die morphologischen, physiologischen und cytologischen Kennzeichen einer Rosahefe, die von Professor Biourge aus dem Satz auf dem Grunde einer Flasche Maidstoner Bieres isoliert worden war. Diese Art bildet auf Bierwürze einen üppigen Schleier; das Temperaturoptimum ihrer Entwickelung schwankt zwischen 20 und 25°; sie verflüssigt langsam Gelatine; auf Petrischen Schalen projiziert sie seltsame Bilder auf den Deckel. Das färbende Prinzip dieser Torula scheint sich dem des Karotin anzuschließen. Diese Torula ist dem Lichte gegenüber empfindlich; sie entwickelt sich bei Licht besser als in der Dunkelheit. Sie bewirkt keine alkoholische Gärung. Einspritzungen, die man mit ihr bei Kaninchen vornahm, beweisen, daß sie nicht pathogen ist.

Morphologisch betrachtet, bietet sie an Besonderem nur Mycelbildungen dar, die durch Knospung abgerundete Zellen ergeben, welche etwas an das Aussehen von Konidien erinnern.

Es gelang den Verff. nach Fixierung mit Möllerscher Jodflüssigkeit und Färbung mit Eisenhämatoxylin einen Kern zu differenzieren, der aus einer Anhäufung von Granulis bestand. Das Protoplasma ist granuliert und zeigt bisweilen stark gefärbte Fäden. Es finden sich darin zwei Arten von Vakuolen; die einen

sind wässerig, die anderen schließen Karotinkristalle ein. Der Kern teilt sich sehr unregelmäßig und zwar amitotisch.

Guilliermond (Lyon).

Sawamura, S., On the curing of the kaki fruits. (Bull. of the college of agriculture, Tokyo.)

Die Kakifrucht, ein in Japan sehr weitverbreitetes Nahrungs- und Genußmittel, enthält außer 83,03 Wasser vorwiegend Zucker, und zwar Glukose und Fruktose. Es gibt süße und adstringierende Varietäten der Frucht. Die adstringierende Qualität verdankt ihren Geschmack dem in der Frucht vorhandenen Tannin. In den unreifen Früchten ist sehr viel Tannin vorhanden, das bei der Reife durch freiwerdende Oxydasen gespalten wird. Verf. gibt eine Methode an, die im wesentlichen im Zerstören der Zellen und Trocknen besteht, um die Oxydasen freizumachen und die Früchte vom schlechten Geschmacke zu befreien. K. Glaessner (Berlin).

Zimmermann, A., Untersuchungen über tropische Pflanzenkrankheiten. [Erste Mitteilung.] (Ber. über Land- und Forstwirtschaft in Deutsch-Ostafrika. Bd. II. Heft I. p. 11—36. Mit Tafel I—II.)

Unter dem angeführten Titel sollen in Zukunft die Krankheiten der Kulturpflanzen Ostafrikas beschrieben werden und zwar einschließlich der saprophytisch auf ihnen vorkommenden Organismen. Krankheiten wildwachsender Pflanzen sollen nur dann Berücksichtigung finden, wenn die Möglichkeit naheliegt, daß sie auf Kulturpflanzen überzugehen im stande sind oder wenn sie sonst besonderes Interesse bilden.

Auf Andropogon Sorghum wurden Blattflecke durch eine Cercospora, die jedenfalls mit der in Nordamerika auf Sorghum halepense beschriebenen C. Sorghi E. u. E. identisch ist, beobachtet; auf derselben Kulturpflanze ein ebenfalls Blattflecken erzeugendes Colletotrichum Andropogonis sp. n., ferner Puccinia purpurea Cooke und Darluca Sorghi sp. n. (aus der Verwandtschaft von D. Filum Cast.)

Auf Pennisetum spicatum fand sich im Versuchsgarten zu Amani eine neue Puccinia, P. Penniseti sp. n., mit Uredo- und Teleutosporen; ein zugehöriges Aecidium ist bis jetzt noch nicht gefunden. Ein in den Fruchtständen vorkommendes, wahrscheinlich zur Gattung Claviceps zu stellendes, Sclerotium ist noch nicht näher beschrieben, da leiter die Askusfruktifikation noch nicht beobachtet werden konnte.

Auf Zea Mays wurde häufig Puccinia Maydis beobachtet; auf Euchlaena mexicana ein Helminthosporium Euchlaenae sp. n.

An dem im Urwalde bei Amani wildwachsenden Piper capense erzeugt eine Wanze Blattflecke in ähnlicher Weise, wie es Helopeltis an Kakao und Cinchona tut. Daher besteht die Befürchtung, daß diese Wanze nach Einführung des schwarzen Pfeffers auch diesen beschädigt.

Arachis hypogaea zeigt auf den Blättern Flecke durch Septogloeum Arachidis Rac., Septogloeum Manihotis A. Z. beschädigt die Blätter verschiedener Manihot sp.

Die von Smith aufgefundene Neocosmospora vasinfecta tritt als Erreger einer Wurzelkrankheit der Baumwolle in Ostafrika auf. Bei der Untersuchung konnte Zimmermann die Smithschen Angaben im wesentlichen bestätigen, nur hält er das von letzterem als runzelig angegebena Exospor für glatt und die Runzeln für angetrocknetes, aus dem Innern der Asci stammendes Plasma. Weiter kommen auf Baumwolle, wenn auch weniger schädlich, vor: Diplodia (Gossypii sp. n.?), Phyllosticta gossypina Ell. und M. und Alternaria macrospora sp. n.

Der Kakao scheint in Ostafrika, entsprechend seiner erst beginnenden Anpflanzung, noch von wenigen Schädlingen heimgesucht zu werden, wenigstens erwähnt Verf. nur die Schädigung durch Helopeltis, die auch auf Bixa orellana übergeht. Wieweit in Ostafrika auch Tee und Cinchona durch Helopeltis gefährdet sind, steht noch nicht fest; in Java sind beide in Mitleidenschaft gezogen, und dem Verf. gelang es, die charakteristischen Flecke zu erzielen, wenn die Wanzen in der Gefangenschaft keine anderen Pflanzen erhielten.

Auf Tee sind zunächst zwei Milbenarten zu erwähnen, von denen die eine, Tetranychus bioculatus, kleine gelbbraune Blattflecke erzeugt, während die andere, noch unbestimmte, auf den Blättern schorfartige Wucherungen veranlaßt. Von Pilzen ist eine Gleosporium Theae sp. n. zu erwähnen.

Cercospora Batatae sp. n. und C. Sesami sp. n. erzeugen Blattflecke auf Ipomoea Batatas und Sesamum indicum.

Die Blätter von Cinchona succirubra und C. Ledgeriana werden von den Raupen von Sphinx nerii abgeweidet und dadurch entstehen manchmal größere Schäden. Außerdem leiden die Pflanzen aber noch an einer Krankheit, wahrscheinlich pilzlichen Ursprunges, die durch Abwelken der Blätter und Bräunung der Stengel gekennzeichnet ist. In dem kranken Gewebe fand sich manchmal Mycel mit Haustorien; Fruktifikationsorgane wurden direkt nicht beobachtet. Bei Kultur in feuchter Kammer erschienen folgende Pilze: Calosphaeria Cinchonae sp. n., Nectria (Dialonectria) amaniana sp. n., N. (Lepidonectria) coffeicola A. Z., N. (Lasionectria) Cinchonae sp. n. und Pestalozzia Cinchonae sp. n.; es muß vorläufig dahingestellt bleiben, ob eine dieser Arten der wirkliche Krankheitserreger ist, da Infektionen bis jetzt noch nicht gelungen sind.

Kaffee. In Java schädigen Tylenchus Coffeae und T. acutocaudatus den Kaffee außerordentlich und lag deshalb die Befürchtung nahe, daß auch Heterodera eine ähnliche Rolle zu spielen vermöge. Direkte Versuche zeigten jedoch, daß infizierte Kaffeepflanzen nach dem Auspflanzen gesundeten. Dagegen tritt ein zu den Physapoden gehöriger tierischer Schädling auf. Von Pilzen ist zu erwähnen Cercospora Coffeae sp. n., die auf den Blättern von Coffea arabica, C. laurina, C. robusta und C. stenophylla vorkommt.

Auf den Blättern der Gurke erzeugt Peronospora cubensis var. atra A. Z. Blattflecke. Appel (Dahlem).

Schellenberg, Die Nadelschütte der Arve. (Naturw. Zeitschrift f. Land- und Forstwirtschaft. Jahrg. I. 1903. p. 306.)

Verf. macht darauf aufmerksam, daß die Arve in ihrer Heimat häufig von einer Krankheit befallen wird, welche sich in ähnlicher Weise äußert wie die Nadelschütte der Kiefern. An den alten Nadeln wurden Lophodermiumperithecien gefunden. Die Frage ist, ob der Arvenschüttepilz identisch ist mit Lophodermium pinastri. Ein morphologischer Unterschied besteht zwischen beiden Pilzen nicht, weshalb dieselben von älteren Botanikern (z. B. Fuckel, Saccardo) auch in eine Art zusammengefaßt wurden. Verf. beweist nun auch durch Infektionsversuche die Identität beider Pilze. Es gelang ihm, den Schüttepilz der Kiefer auf die Arve zu übertragen. Auch die Arve ist, wie die gemeine Kiefer, dann besonders der Infektionsgefahr ausgesetzt, wenn die Nadeln der jungen Pflanzen dem Boden nahe sind. Der Schaden, der an Arvenaufwuchs durch den Pilz oft angerichtet wird, ist ziemlich beträchtlich.

Neger (Eisenach).

v. Tubeuf, C., Frhr., Die Gipfeldürre der Fichten. (Naturwiss. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtsch. Bd. I. 1903. p. 1, 279, 309, 367, 413, 417.) [Sammelreferat.]

Im Frühjahr 1902 zeigte sich zunächst im kgl. bayr. Forstamte Starnberg, nach späteren Feststellungen auch in anderen Gebieten, und zwar nicht gleichmäßig verteilt, sondern in ganz bestimmten Strichen und Zügen auftretend, eine höchst auffällige Erkrankungserscheinung an Fichten, auch an einzelnen Kiefern und Lärchen. An Tausenden von Bäumen war der äußerste Gipfel auf 2—3 m, bei Freiständern auch auf 4—5 m abgestorben. Unmittelbar an die tote Gipfelpartie grenzten grüne, ganz gesunde, normal benadelte Aeste; Wurzeln und unterer Stammteil waren stets gesund geblieben. Die Erscheinung fand sich nur an Bäumen, welche höher als ihre Umgebung waren, zumeist an hervorragenden Stämmen in Althölzern und an älteren, wenn auch kurz gewachsenen, vereinzelt stehenden Bäumen auf Weideflächen.

Pathologisch charakteristisch war bei allen gipfeldürren Fichten, Lärchen und Kiefern die im Hauptstamme, in kürzester Linie von der Spitze herab verlaufende Krankheitsbahn. Getötet wurde hierbei nur der äußerste Gipfel, sodaß die obersten Seitenäste vertrocknen mußten. Unterhalb der abgestorbenen Spitze war in der anstoßenden Region nur der Hauptstamm tot, während die Zweige noch Zuwachs zeigten und solchen unter ihrer Basis auch auf dem Hauptstamm ablagerten.

Die anatomische Untersuchung stellte folgendes fest: in der oberen Gipfelregion sind Rinde, Bast, Kambium und Holz vollständig tot, in den unteren Teilen nur die äußere Rinde und ein Streifen im Bast, die Aeste sind hier gesund. Die getötete Rinde wird durch eine weiße Korkschicht gegen das innere lebende Gewebe isoliert. Mitten im letzteren liegt — auf dem Querschnitt als brauner Ring erscheinend — der tote Bastteil. Das Kambium ist gesund und bildet neuen Bast und neues Holz. Mit zunehmender Stammstärke löst sich der braune (tote) Bastring nach unten zu allmählich auf, so daß nur noch einzelne, im Querschnitt augen-

förmig erscheinende, von Kork eingekapselte Längsstreifen gebräunt sind. Einige Meter unterhalb der abgestorbenen Partie verlieren sich sämtliche Krankheitssymptome.

Da bisher keine einzige Erkrankung der Nadelhölzer bekannt ist, bei welcher auch nur eine Andeutung einer ähnlichen Bastbräunung im lebenden Stammteile unterhalb der toten Region bemerkbar wäre, führt v. Tubeuf, gestützt auf die schönen grundlegenden Untersuchungen R. Hartigs über Blitzspuren, die vorliegende Gipfeldürre auf elektrische Ausgleichungen zwischen den Baumgipfeln und einer Wolke zur Zeit der Vegetationsruhe, also auf Wintergewitter zurück.

Jeden Zweifel beseitigende Beweise für die Richtigkeit dieser wertvollen Bereicherung unserer pflanzenphysiologischen Kenntnisse werden in den sehr eingehenden Darstellungen des anatomisch-pathologischen Befundes bei gipfeldürren Nadelhölzern (a. a. O. p. 309, 367, 413, 417, Taf. IV—X), sowie durch die im Verein mit dem Physiker Prof. Dr. Zehnder vorgenommenen Experimente erbracht, welche die pathologische Wirkung künstlich erzeugter elektrischer Funkenströme auf Leben und Gesundheit der Nadelhölzer (a. a. O. p. 448, Taf. X, XI) nachweisen. Gleichzeitig widerlegt v. Tubeuf damit Prof. Dr. Möller-Eberswalde, der in der Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen (Jhrg. XXXV. 1903. p. 365) unter dem Titel: „Die wahre Ursache der angeblich durch elektrische Ausgleichungen hervorgerufenen Gipfeldürre der Fichten" die Annahme Tubeufs als unbewiesen und unbegründet bestreitet und nach eigenen Beobachtungen den Fraß von Grapholitha pactolana für die Ursache der besprochenen Gipfeldürre ansieht.

Abgesehen davon, daß die untersuchten, gipfeldürren, von Grapholitha nicht angegangenen Holzarten, Kiefer und Lärche, dieselbe charakteristische am Stamm herabreichende Bastbräunung zeigten wie die Fichten, ließ sich auch bei letzteren eine Beziehung der Fraßgänge von Grapholitha zu den Bräunungen in keinem Falle beobachten. Auch fehlten die Bräunungen an allen von Grapholitha allein befallenen jüngeren Pflanzen selbst dann, wenn der Gipfel vollständig zum Absterben gebracht war.

Die oben geschilderten, vom Verf. bei der Besprechung des anatomischen Sektionsbefundes zahlreicher Probestämme eingehend illustrierten pathologischen Folgeerscheinungen in den gipfeldürren Hölzern lassen sich mit um so mehr Recht auf elektrische Ausgleichungen zurückführen, als sie auch in Bäumen nach zweifellosen, mit äußeren Verletzungen verbundenen Blitzschlägen vorkommen. Die interessanten Versuche endlich mit experimentell erzeugten Funkenströmen riefen bei den eingetopften Versuchspflanzen sowohl die äußere Erscheinung der Gipfeldürre als auch ganz die gleichen anatomisch-pathologischen Zustände im lebenden Stamme hervor.

Mit nur einer Ausnahme führt v. Tubeuf alle von ihm genauer untersuchten Fälle von Gipfeldürre auf dasselbe Jahr (die Vegetationsruheperiode von 1901/02) zurück. Es scheint demnach die Gipfeldürre glücklicherweise zu den nicht sehr häufig eintretenden Naturereignissen zu gehören. Beck (Tharandt).

Heck, Vom Tannenkrebs. (Forstwiss. Centralbl. 1903. Sept.-Okt.-Heft.)

Verf. erörtert zunächst die Frage, ob die wissenschaftlich interessante Entdeckung des Generationswechsels von Aecidium elatinum durch Prof. Fischer-Zürich praktische Verwendbarkeit bei der Vertilgung der Krebskrankheit habe, verneint dieselbe und erkennt mit Recht den Schwerpunkt der Bekämpfung in der Beseitigung und Verhinderung der Krebsansiedelung am Schaft. Abgesehen von dem stets vorteilhaften und immer anzustrebenden Sammeln jedes erreichbaren lebenden Hexenbesens liegen die Bekämpfungsmaßnahmen lediglich auf waldbaulichem Gebiete. Wie Verf. an einem Beispiel eines von ihm im großen ausgeführten Ausrottungskampfes nachweist, gewährt allmählicher Aushieb der bereits angesteckten Schaftkrebsstämme auf dem Wege der freien Durchforstung vollkommene Aussicht auf durchgreifenden Erfolg. Die von v. Tubeuf ausgesprochene Vermutung, daß geschlossene Tannenbestände mit natürlicher Verjüngung infolge geringerer Unkrautflora die Krebsgefahr mindern, erscheint unzutreffend.

In der Biologie des Aecidium elatinum bleibt angesichts des Nachweises der Dauersporengeneration auf den kleinen krautartigen Alsineen die Tatsache unaufgeklärt, daß Hexenbesen in Baumschulen und jungen Tannenbeständen zu den größten Seltenheiten gehören, während umgekehrt die Gipfel alter Tannen oft mit Hexenbesen, also Krebsansteckung, übersäet sind. Bei dem meist reichen Unkrautwuchs sollten gerade in den Forstgärten besonders günstige Verhältnisse für die Ansteckung vorliegen. Der von Heck schon früher erbrachte zahlenmäßige Nachweis, daß die durchschnittliche Höhe der Schaftkrebse nur etwa $^1/_8$ der Scheitelhöhe der befallenen Stämme beträgt, bedarf ebenso noch der Erklärung.

Beck (Tharandt).

Hollrung, M., Gutachten über Schädlinge der Kokospalme im Bismarckarchipel. (Tropenpflanzer 1903. Zeitschr. f. tropische Landwirtschaft. Jg. VII. p. 136.)

Dem Kolonialwirtschaftlichen Comité wurden von der Neu-Guinea Kompanie Kokosblätter eingesandt, auf welchen sich verschiedene Schädlinge vorfanden, welche zuweilen das Gedeihen der Palmen in hohem Maße beeinträchtigen können.

Das eingesandte Material enthielt dreierlei Schädlinge, und zwar 1) Milben, 2) eine Schildlaus und 3) ein bezw. zwei Pilze.

Die Milben gehören 3 verschiedenen Arten an, deren völlig genaue Bestimmung jedoch noch nicht gegeben ist (Akariden, Tetranychopsis, Bdella?). Eine von ihnen, und zwar mit der zuletzt genannten Art verwandte Milbe, dürfte nach dem Verf. mit Bestimmtheit die Ursache des langgestreckten, zwischen den Gefäßbündeln der Palmenfelder sich entlang ziehenden, linienförmigen Fraßes sein.

Die im großen und ganzen nur in geringen Mengen auf den Blättern sitzende Schildlaus ist Aspidiotus destructor, eine Verwandte der San José-Laus. Dieser Schädiger hat sich

neuerdings in mehreren Tropengegenden recht unliebsam bemerkbar gemacht, so bekanntlich in neuerer Zeit auch in Togo und auf der Karolineninsel Yap.

Weiterhin fanden sich auf den geschwärzten Stellen des Blattes in größerer Anzahl kleine schwarze Pünktchen vor, die Pykniden eines Pilzes, dessen Zugehörigkeit sich indessen aus dem vorliegenden Material nicht ohne weiteres bestimmen ließ. Daneben fand sich ein grün-graues, septiertes, gekröseartig verschlungenes Mycel vor, welche kleine dreiteilige, ebenfalls graugrün gefärbte Konidien abschnürt. Verf. vermutet, daß es sich um den Pilz Pestalozzia palmarum handelt, der seinerzeit von Cooke in seinem „Cocoa-Palm Fungi" beschrieben worden ist.

Was die event. Bekämpfung des genannten Pilzes anbelangt, so glaubt Verf., daß es nicht notwendig ist, irgend welche Maßnahmen gegen denselben zu ergreifen, da der Pilz nach den bisherigen Erfahrungen wenigstens sich nur auf abgestorbenen Teilen der Palmpflanze ansiedelt.

In gleicher Weise ist nach dem Verf. fraglich, ob es sich lohnt, etwas gegen die Schildläuse bei deren relativ geringen Anzahl und den immer beträchtlichen Kosten einer Bekämpfung zu unternehmen.

Anders verhält es sich mit den Milben, zu deren Bekämpfung die verschiedenartigsten Mittel (Klebemittel, Ueberkleidung der Palmenwedel mit giftigen Substanzen direkte Verwendung von tötenden Flüssigkeiten oder gasförmigen Körpern, Schweinfurter Grün in Kupferkalkbrühe, Schmierseife, Emulsionen von Fetten und Oelen, Blausäure, Schwefelwasserstoff) angewandt werden können.

Heinze (Halle a. S.).

Van Hall, C. J. J., Das Absterben der Stöcke der Johannis- und Stachelbeeren, verursacht von Cytosporina Ribis P. Magnus (n. sp.). (Annales Mycologici, Bd. I. 1903. No. 6. p. 503—512. Mit Taf. XI.)

Die sehr sorgfältige Kultur der Johannis- und Stachelbeere in der Provinz Nord-Holland hat zur Folge, daß dort in den Obstgärten sowohl die parasitären Krankheiten der genannten Kulturgewächse, wie Gloeosporium Ribis Oud., Aecidium Grossulariae DC., Mehltau etc., als auch die nichtparasitären Erkrankungen, Wassersucht und Krebs, nur selten auftreten. Hingegen verursacht eine andere bisher noch nicht genauer bekannte Krankheit den Züchtern großen Schaden; est ist das Absterben der Stöcke.

Die Symptome können sich zu allen Jahreszeiten zeigen. Die Blätter eines der Hauptäste fangen plötzlich an, sich zu verfärben, die Rinde des Stockes zeigt sich sehr wasserreich, schwillt oft stark an und nimmt eine schwammartige Konistenz an. Das Periderm wird hierbei gesprengt und durch den entstandenen Riß quillt die Rinde wie eine Art Callus hervor. Während das Holz in den oberen Teilen keine besonderen Veränderungen erkennen läßt, nimmt das Holz in den unteren Partieen des erkrankten Stockes eine graue oder graubraune Färbung an, die, je mehr man dem

Boden näher kommt, an Intensität zunimmt, jedoch auf einen bestimmten Sektor beschränkt bleibt.

Einmal von der Krankheit befallene Stöcke haben stets das Eingehen des Stockes zur Folge. Die Sträucher, welche um die Stelle des eingegangenen Strauches stehen, sowie diejenigen, welche an Stelle des letzteren neu gepflanzt werden, gehen, wenn keine Gegenmaßregeln getroffen werden, gewöhnlich auch in kurzer Zeit an derselben Krankheit zu Grunde. Neben dieser zentrifugalen Ausbreitung der Krankheit läßt sich jedoch auch eine sprungweise Ausbreitung derselben erkennen.

In den erkrankten Teilen konnte Verf. Mycelfäden nachweisen, deren Kultur leicht gelang. Der Kulturnährboden, zusammengesetzt aus einem Dekokt von Holz des Johannisbeerstrauches unter Zusatz von Glukose, Pepton „Witte“ und Agar, war bald mit den sich üppig entwickelnden Mycelien überzogen. Andere Nährböden erwiesen sich als weniger günstig.

Fruktifikationsorgane konnte Verf. jedoch lange Zeit hindurch nicht erhalten. Erst als mehrere Kulturgefäße in einem nicht geheizten Zimmer aufgestellt wurden und im November einem sehr intensiven Froste ausgesetzt waren, welcher sogar das gänzliche Einfrieren der Kulturen veranlaßte, bildeten sich in diesen, als die Temperatur wieder stieg, im Dezember eine Menge anfangs grauer, später schwarzer Polsterchen, aus welchen einige Wochen darauf gelbe schleimige Sporenranken zum Vorschein kamen. Diese Schleimfäden bestanden aus einer Menge gekrümmter einzelliger Sporen. Die Kulturen, welche im erwärmten Zimmer zu gleicher Zeit ausgeführt wurden, zeigten hingegen keine Pyknidenbildung; somit scheint es, daß gerade die niedere Temperatur günstig auf die Entwickelung der Fruktifikationsorgane eingewirkt hat.

Dieser so isolierte Pilz hat sich als neu erwiesen und wird von P. Magnus als Cytosporina Ribis n. sp. benannt. Ob vielleicht Cytospora Ribis Ehrbg. mit demselben identisch ist, läßt sich nicht entscheiden, da die von Ehrenberg gegebene Beschreibung seiner Art zu dürftig ist.

Auf welche Weise die Bekämpfung der Krankheit erfolgreich durchgeführt werden kann, läßt sich noch nicht sagen. Selbst das Fortschaffen des kranken Strauches mit der umgebenden Erde bis auf 2 Fuß Tiefe vermag oft dennoch nicht zu hindern, daß die umstehenden Sträucher infiziert werden. H. Sydow (Berlin).

Vaňha, Joh., Blattbräune der Kartoffeln (Dürrfleckigkeit). (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1904. p. 113.)

Seit vielen Jahren beobachtete Verf. eine Kartoffelkrankheit, welche manchmal der Phytophthora-Krankheit ganz ähnlich erscheint, so daß sie gewiß für dieselbe gehalten wurde, weshalb sie der Aufmerksamkeit der Forscher lange entgangen ist. In den letzten Jahren ist diese Krankheit in Böhmen und Mähren fast zu einer Landplage geworden. Die Krankheit charakterisiert sich dadurch, daß zur Zeit der üppigsten Vegetation, etwa im Juli und August gewöhnlich zunächst auf den Endblättchen oder auch den Seiten-

blättchen meist der oberen Blätter der Kartoffelstauden kleine schwarzbraune Flecken in der Blattspreite der noch gesund-grünen Blätter entstehen. Die Flecken werden immer größer, fließen zu großen Flecken zusammen und greifen das ganze Blatt an, welches dann schwarz wird und gänzlich vertrocknet. Die Flecken sind von unregelmäßiger Form, meist rundlich-eckig von verschiedener Größe, jedoch stets scharf begrenzt ohne jeglichen Rand, wodurch sie sich von den sonst ganz gleichen Phytophthora-Flecken, die am Rande auf der Blattunterseite stets weißlichen Anflug zeigen, unterscheiden. Die Flecken durchdüngen das ganze Blattgewebe; die kleineren Flecken zeigen sehr häufig eine unregelmäßige gruppenweise Schichtung, welche bei den großen Flecken fehlt. Bei stärkerer Infektion geht das ganze Kartoffelkraut vorzeitig zu Grunde und die Pflanzen sterben oft schon Ende Juli oder im August gänzlich ab. In Bezug auf den Ertrag der Knollen und Stärke ist der Schaden immer mehr oder weniger bedeutend; bei frühzeitigem Eintritt der Krankheit bleiben die Knollen klein und stärkearm. Am meisten unterliegen der Krankheit die zartblättrigen und feinen Kartoffelsorten, während die rauh- und dickblättrigen spätreifenden Sorten derselben lange widerstehen. Immerhin unterliegen die meisten Sorten mehr oder weniger vollständig. Die Ursache der Krankheit ist ein Pilz, der auch saprophytisch zu leben vermag, was seine Verbreitung ungemein fördert. Die Krankheit hat mit der bekannten Kräuselkrankheit nichts Gemeinschaftliches, ebensowenig mit den „Pockenflecken". Analog der auf den Rüben vorkommenden Blattbräune, verursacht durch den nahe verwandten Pilz Sporidesmium putrefaciens (Fuckel) oder Pleospora putrefaciens (Frank), schlägt Verf. für die vorliegende sehr ähnliche Kartoffelkrankheit den Namen „Blattbräune" vor und nennt den Pilz selbst Sporidesmium solani varians (noa. sp.). Zur Bekämpfung der Krankheit können alle diejenigen Bekämpfungsmaßregeln angewendet werden, welche sich gegen die Phytophtora-Krankheit bereits allgemein bewährt haben. Zum Schluß der Abhandlung gibt Verf. eine eingehende Beschreibung der Entwickelung des Pilzes, auf die hier verwiesen werden muß. Stift (Wien).

Ravaz, L. und **Sicard, L.,** Sur la brunissure de la vigne. (Compt. rend. hebd. Acad. Sc. Paris 1903. T. CXXXVI. p. 1276.)

Ravaz hat früher (1902) festgestellt, daß die als „brunissure" bezeichnete Krankheit des Rebstockes nach besonders reichlicher Ernte auftritt. Die beiden Verff. machen nunmehr durch eingehende chemische und mikroskopische Untersuchungen dieses Resultat verständlich. Es wird gezeigt, daß die reichliche Fruchtentwickelung die Gewebe verarmen läßt, der Gehalt an Stickstoff, Phosphorsäure und Kalium nimmt erheblich ab; Kalk und Magnesium sind in den erkrankten Exemplaren reichlicher als in den gesunden. Im Winter enthalten die ersteren in den Zellen der Wurzeln und Sprosse wenig Reservestoffe, Stärke fehlt ganz. Das Protoplasma ist spärlich, der Kern kleiner und schwerer färbbar als unter normalen Verhältnissen. Küster (Halle a. S.)

Delacroix, G., Die Gelblaubigkeit der Zuckerrübe (la jaunisse de la betterave). (La sucrerie indigène et coloniale. Jahrg. XXXIX. 1903. p. 678.)

Im Jahre 1896 wurde in Frankreich zum erstenmal eine Blattkrankheit der Zuckerrübe beobachtet, welcher stellenweise zwei Drittel der erwarteten Ernte zum Opfer fielen. Da sich bei dieser Krankheit die Blätter gelb färbten, so wurde dieselbe als „Gelblaubigkeit" bezeichnet. Die Krankheit trat auch in den weiteren Jahren auf, so daß sie Verf. näher studieren und deren Ursache feststellen konnte. Im allgemeinen zeigt sich die Krankheit in der ersten Hälfte Juli; die Blätter verlieren ihre Vollsaftigkeit, die Blattstiele werden nachgiebiger und die Spitze des Blattes neigt sich zu Boden. Gleichzeitig entsteht auf der Blattfläche, zuerst bei den äußeren Blättern, später dann auf den Herzblättern eine feine dunkel- und blaßgrüne Zeichnung, wie bei der „Mosaikkrankheit" des Tabakes. Der Unterschied in der Farbe der lichten und dunkelgrünen Flecken wird immer geringer, bis die farbigen Flecken allmählich eine einheitliche gelbe Färbung annehmen. Das Blatt stirbt schließlich ab, indem es abtrocknet und eine gelblichgraue Färbung annimmt. In den kranken Blattteilen wurde die Anwesenheit zahlreicher kurzer, eiförmiger und tonnenförmiger Bakterien festgestellt, welche sich in der sie umgebenden Flüssigkeit ziemlich rasch im Kreise bewegen. Die Chlorophyllkörperchen zeigen in den kranken Zellen besonders charakteristische Eigenschaften; sie sind blaß und werden immer gelber, wobei sich gleichzeitig die reine Kontur verliert. Vermutlich wird der Zerfall des grünen Farbstoffes durch eine von der Bakterie ausgeschiedene Substanz bewirkt, doch kann Verf. darüber noch nichts Bestimmtes sagen. Die Bakterien finden sich nicht bloß in den Blättern vor, sondern auch in den Blattstielen, im Stengel und in denjenigen Teilen der Wurzeln, wo sie überwintern. Bei Samenrüben findet man dieselben in den Blüten- und Kelchblättern, nicht aber in der Fruchtschale und auch nicht in den Samenknäulen. Außer der Anwesenheit der Bakterien und der Entfärbung der Chlorophyllkörper zeigen die erkrankten Zellen keine andere Veränderung.

Reinkulturen der Bakterien lassen sich aus Blättern nur schwer, dagegen mit Leichtigkeit aus den Blattstielen herstellen. Die Bakterien entwickeln sich gut in gewöhnlicher, fast neutraler Bouillon, in Kalbsbouillon sowie auch im peptonisierten Rübensaft. Sie sind aërob und besitzen auf der Oberfläche einen fast durchsichtigen Schleier. Beim Altern zieht sich dieser Schleier in das Innere in Form eines weißen, sehr zähflüssigen Niederschlages ein. Auf Gelose bilden die Kulturen Kolonieen in Form von dünnen Plättchen, welche fast durchsichtig, matt, mit fein genarbter Oberfläche sind und rasch verflüssigen. Trotz vieler Versuche gelang es nicht, die Bakterien auf gelatinierten Nährböden zu züchten. Wegen dieser besonderen Eigenschaft vermutet Verf., daß diese Bakterie noch nicht beschrieben wurde, und schlägt für dieselbe den Namen Bacillus tabificans G. Del. vor. Bemerkt sei noch, daß weder Wimpern noch eine Sporenbildung beobachtet wurden.

Bezüglich der Infektion wurde beobachtet, daß durch kranke, abgetrocknete Blätter die Krankheit auf junge Rübenpflanzen übertragen werden kann. Dabei hat sich gezeigt, daß die Bakterie von der zweiten Generation an ihre bösartigen Eigenschaften verliert. Feuchtes Wetter beschleunigt die Infektion. Bezüglich der Art des Eindringens der Bakterien kann nur die Vermutung gehegt werden, daß dies durch die Poren der Pflanze geschieht. Die Verbreitung der Krankheit kann durch die befallenen Rüben und durch die im Boden befindlichen Reste der erkrankten Blätter herbeigeführt werden. Auch durch den Samen, welcher von kranken Samenrüben geerntet wurde, kann die Krankheit in gesunden Boden eingeführt werden. Geschälter Samen überträgt jedoch die Krankheit nicht, wodurch der Beweis geliefert ist, daß die Bakterien wohl in der Samenschale, nicht aber in dem eigentlichen Samen vorhanden sind. (Ist ein Widerspruch gegen früher. Der Ref.) Um die auf und in der Fruchtschale enthaltenen Keime (Sporen?) der Bakterien abzutöten, wurden verschiedene Lösungen versucht, doch waren die Resultate ziemlich unbefriedigende, nachdem höchstens Kupfersulfat (1:100) und Sublimat (1:500) einen Erfolg erwarten lassen. Aber auch hier würde für die Praxis die ungenügende Keimfähigkeit der desinfizierten Knäule ins Gewicht fallen. Interessant ist, daß bei dieser Krankheit das Alter des Rübensamens in Bezug auf die Verbreitung eine wichtige Rolle spielt. Je älter nämlich der Same ist, um so sicherer ist man, daß die Krankheit unterdrückt wird. So hat z. B. ein von einer erkrankten Staude stammender 4 Jahre alter Samen vollkommen gesunde Rüben geliefert, während die jüngeren Jahrgänge einen gewissen Prozentsatz der Krankheit aufwiesen. Bespritzungen der erkrankten Rübenblätter mit unterschiedlichen Kupferlösungen, ferner mit alkoholischen Lösungen von Phenol und Lysol führten zu keinem befriedigenden Resultat, so daß eine derartige Bekämpfung aussichtslos erscheint. Der Schaden, den die Krankheit verursacht, kann unter Umständen ein ganz bedeutender sein, nachdem er sich nicht nur in einer Erniedrigung des Zuckergehaltes äußert, sondern auch in einer Ertragsverminderung der Wurzel, daher also die Rübenernte in qualitativer und quantitativer Beziehung vermindert.

Als Bekämpfungsmaßregeln stellt Verf. kategorisch die folgenden auf: 1) Man wende eine Fruchtfolge an, bei welcher die Rübe nicht früher als von 3 zu 3 Jahren an die Reihe kommt. 2) Man vermeide die Uebertragung von infizierten Rübenblättern auf den Dünger und es sollen die Blätter tief in den Boden verscharrt werden. 3) Es soll nur mindestens durch 4 Jahre lang gelagerter Samen gesät werden. 4) Man trachte die Samenrübenzucht aus Gegenden, in welcher Rüben zu Zwecken der Zuckerfabrikation und Spirituserzeugung, sowie Futterrüben gebaut werden vollständig zu verdrängen. (Die Ausführungen von Delacroix sind nicht nur unklar, sondern enthalten auch vielfache Widersprüche, auf die in dem engen Rahmen des Referates nicht eingegangen werden konnte. Durch diese Widersprüche everlieren seine Beobachtungen und Versuche bedeutend an Wert, und noch weniger ernst können die von ihm gegebenen Bekämpfungsmaßregeln genommen werden, die in

den zwei letzten Punkten Forderungen aufstellen, die gerade in den Kreisen der Wissenschaft und noch mehr in denjenigen der Praxis Heiterkeit erregen dürften, also das Gegenteil des beabsichtigten Zweckes erreichen. Der Ref.) Stift (Wien).

Trotter, A., Cecidologia o Cecidiologia. (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 170—172.)

Philologische und kritische Erwägungen, aus denen hervorgeht, daß es richtiger ist, Cecidologie anstatt Cecidiologie, Cecidozoon anstatt Cecidiozoon u. s. w. zu schreiben.

A. Trotter (Avellino).

Trotter, A., Miscellanee cecidologiche. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 29—35.)

1) Mimicryfälle zwischen den Eiern eines Lepidopteren, die oft auf den Blättern von Populus tremula vorkommen, und den Gallen von Harmandia globuli, die sich auf denselben Blättern entwickeln.

2) Aufzählung 13 europäischer und exotischer, in Rußland und angrenzenden Teilen der Balkanhalbinsel aufgefundener Gallen.

3) Verzeichnis einiger alten cecidologischen Schriften. Es handelt sich um 27 seltene oder wenig bekannte Abhandlungen aus dem XVII., XVIII. und Anfang des XIX. Jahrhundert, die Gallen von verschiedenen Gesichtspunkten behandeln.

4) Ueber die Galle von Andricus Targioni Kieffer (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 5), die auf Blättern von Quercus pedunculata in Toskana gefunden wurde und die der Galle von Andricus fecundator und einer anderen auf Quercus aliena in China, sehr ähnlich ist. A. Trotter (Avellino).

Trotter, A., Nuovi zoocecidi della Flora italiana. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 7—23. Mit 9 Textfig.)

Verf. beschreibt 72 in Italien neue Gallen. In der Cecidologie sind die folgenden neu:

I. Neue Substrate:

Althaea officinalis (? Aphis urticaria); Astragalus glycyphyllos (Cecidomyid., eingefaltete Blättchen); Brassica fruticulosa (Cecidomyid., hier und da angeschwollene Schoten); Carex verna (Cecidomyid., aufgetriebene Schläuche); Chaerophyllum temulum (Lasioptera sp., Stengelverdickung); Dorycnium herbaceum (Tephritis sp., Stengelanschwellungen); Draba muralis (Eriophyes sp., wollhaarige Blattmißbildungen); Geranium lucidum (Eriophyes sp., gefaltete, hypertrophisch mißgestaltete Blätter); Hippocrepis comosa (Coccidae, lokale Stengelhypertrophie); Hypericum perfoliatum (Perrisia? Hyperici); Hypochaeris aethnensis (Aulax Hypochaeridis); Lamium flexuosum (Cecidomyide, horntragende Blatt- und Sproßgallen); Lamium flexuosum (Macrolabis corrugans); Lathyrus venetus (Cecidomyide, eingerollter Blattrand); Linaria purpurea (Contarinia Linariae); Mentha silvestris (Eriophyes sp., Erineum Menthae); Polygonum romanum (Augasma aeratella); Quercus Suber (Neuroterus sp., die Gallen ähneln den von N. minutulus); Raphanus Raphanistrum und R. sativus (Gallen, die den von Ceuthorhynchus Rübsaameni sehr ähnlich sind); Salix arbuscula und Lapponum (Pontania vesicatrix); Serratula tinctoria (? Diplosis Centaureae); Trifolium scabrum Perrisia ? axillaris); Veronica Beccabunga (Perrisia similis); (Veronica persica (? Cecidomyide, Stengelanschwellungen).

II. Neue Gallen:

? Entomocecidium auf Asparagus acutifolius (mißgestaltete, atrophische End- u. Seitensprosse); Eriophyes sp. auf Dianthus monspessulanus (krause, atrophische Blätter); Eriophyide auf Epimedium alpinum (schmale Einfaltungen der Blattfläche, meist des Blattrandes); Cecidomyide auf Geranium striatum (Blätter nicht hypertrophisch, nach der oberen Seite zusammengefaltet, keine Haarbildung); Aphidida auf Peucedanum Cervaria (zusammengerutschte und gerollte Blätter); Neuroterus sp. auf Quercus Cerris (eirunde, 1 mm breite, zusammengehäufte, mit sehr langen, rotgelben Haaren bedeckte Blattgallen); Eriophyes auf Satureja Calamintha (abnormale Pubeszenz auf Blättern und Stengeln); Eriophyide auf Serratula tinctoria (abnormale Pubeszenz auf sämtlichen Organen); Eriophyide auf Specularia Speculum (atrophische, haarige Sprößlinge); Eriophyide auf Teucrium Chamaedrys (abnormale Pubeszenz der Blätter und Stengel); Cecidomyide auf Vinca major (die End- und Achselsprosse sind atrophisch, mißgestaltet und sehen wie eine einzige, große Knospe aus. Im Inneren leben mehrere rötliche Larven).

A. Trotter (Avellino).

Trotter, A., Elenco di galle raccolte in Ispagna. (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 122—125.)

Dieses Verzeichnis enthält 74 Gallen, die meisten sehr gewöhnlich, die Verf. selbst im Sommer 1901 an verschiedenen Orten Spaniens sammelte. A. Trotter (Avellino).

Trotter, A., Progresso ed importanza degli studi cecidologici. (Marcellia. Vol. I. 1902. p. 5—12.)

Seit 50 Jahren hat die Cecidologie, als interessantes Einzelgebiet der Biologie oder genauer der Pflanzenpathologie, eine beachtenswerte Entwickelung erreicht, so daß die Begründung eines internationalen Zentralorganes (Marcellia) ein Bedürfnis geworden war. Verf. bespricht in diesem einleitenden Artikel die Fortschritte der Cecidologie und zählt einige der wichtigen zu erforschenden Fragen auf, die sich an die Kenntnis derselben anknüpfen. Um 1850 war 400 die Anzahl der bekannten europäischen Gallen; heute sind schon 3000 bekannt geworden. Der Eichengallen allein waren es damals ungefähr 80, heute mehr als 300! Inzwischen haben durch Züchtungsversuche der Gallentiere 3 natürliche Familien sich davon züchten lassen, nämlich Cecidomyien, Cynipiden und Phytoptiden. Bisher sind die Angaben über extraeuropäische Gallen sehr lückenhaft, da nur ca. 1000 davon bekannt sind; man kann die Anzahl der auf der Erde vorhandenen Gallen auf 40000 schätzen, wenn man die Anzahl der bekannten europäischen Gallen und Gallenpflanzen mit der Zahl der auf dem Erdball existierenden Phanerogamen ins Verhältnis stellt. A. Trotter (Avellino).

Trotter, A., Di una forte infezione di Anguillule radicicole in piante di garofano. (Bollettino d. Società Botanica. 1903. p. 156—157.)

Die Nelkenplantagen bei Venedig, die mit Abfällen der Stadt gedüngt zu werden pflegen, wurden von einer ungeheuren Menge Aelchen vernichtet. Auf den Wurzeln war keine Strecke frei von Aelchenknollen. Verf. empfiehlt fürs nächste Jahr, alles zu verbrennen und mit Schwefelkohlenstoff den Boden zu reinigen.

Pantanelli (Zürich).

Trotter, A., Descrizione di varie galle dell' America del Nord. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 63—79. Mit 15 Textfig.)

Verf. beschreibt 49, meist aus Nord-Carolina stammende, größtenteils neue Gallen. Es wird auch ein neuer Acarus beschrieben, Eriophyes Nyssae n. sp., der kugelförmige Gallen auf Blättern von Nyssa silvatica hervorruft. Es folgt ein sehr reiches, fast vollständiges Verzeichnis der cecidologischen Literatur für Nordamerika. A. Trotter (Avellino).

Brizi, V., Sulle alterazioni prodotte alle piante coltivate dalle principali emanazioni gasose degli stabilimenti industriali. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXVI. 1903. p. 279—383.)

Es ist zu bedauern, daß diese wichtige, preisgekrönte, Anfang 1902 schon fertige Abhandlung erst im Sommer 1903 veröffentlicht wurde, nachdem große deutsche Werke auf demselben Gebieto erschienen waren. — Von dem Gedanken geleitet, die mikroskopische Untersuchung sei vor allem zu verwenden, um eine sichere Feststellung der Rauchbeschädigung rasch auszuführen, gibt uns Verf., durch eigene Versuche unterstützt, eine eingehende Beschreibung der Blattverwüstungen durch die gefährlichsten Rauchbestandteile. Mehrjährige Erfahrungen haben ergeben, daß die wichtigsten Rauchbeschädigungen wesentlich von solchen Rauchbestandteilen bewirkt werden, die fast in keinem Rauch fehlen und meist in großer Menge auftreten. Diese hauptsächlichsten Rauchelemente, deren Wirkung die aller übrigen übertrifft und verdeckt, sind SO_2 (nebst H_2SO_3 und H_2SO_4) HCl- und Leuchtgas, vor allem Acetylen, das in Italien zur öffentlichen Beleuchtung kleiner Städte sehr viel verwandt wird. Nach Versuchen des Verf. greift im Boden verbreitetes Acetylen die Wurzeln direkt an, die, äußerlich unverändert, dem Erstickungstode bald anheimfallen. Sämtliche übrigen Rauchbestandteile üben dagegen keine Wirkung auf das Wurzelsystem aus.

Auf Blättern ist die Wirkung von gasförmigem SO_2 leicht zu erkennen. Rasche Plasmolyse, Verfärbung und Desorganisation der Chloroplasten sind keine undeutlichen Zeichen. Die Verbrennungen durch im Tau oder in stillem Regenwasser aufgelöste H_2SO_4 oder H_2SO_3 zeichnen sich durch starke Zusammensinterung der Gewebe, scharfe und regelmäßige Abgrenzung der Flecken, rasches Zusammenschnellen des Protoplasten in einen zentralen Klumpen, starke Verquellung der Chloroplasten und Stärkekörner, charakteristische Einfaltungen der Zellhaut der Mesophyllzellen und schließliche Zerstörung der verbrannten Gewebe. Die HCl-Vergiftung ist dadurch deutlich erkennbar, daß sich Gewebe und Protoplasten nicht zusammenziehen, die Membranen keine Einfaltung bekommen und die Chloroplasten ohne Aufquellung verbleichen. — Es sind dies alles Zeichen, die eine sichere Beurteilung gestatten und parasitische Eingriffe ausschließen lassen, die in der Tat von Landwirten sehr oft als Rauchbeschädigungen angesehen werden.

Die chemische Untersuchung vermag dagegen nach Verf. nur begrenzte Dienste zu leisten, denn nur im Falle großer Gehaltdifferenzen an die fragliche Substanz in gesunden und befallenen

Pflanzen ist eine Beurteilung möglich; können ja z. B. Sulfate und Chloride in ziemlich großer Menge in ganz gesunden Pflanzen vorhanden sein und umgekehrt können aus anderweitigen Gründen kranke Pflanzen wegen Permeabilität- oder Stoffwechselstörungen sehr viel von einer schädlichen Substanz aufnehmen.

Um die Rauchbeschädigungen möglichst zu verringern, wird es nach Verf. ratsam sein, wenn die Arbeit über den Frühling fortdauern muß, gut funktionierende Kondensations- und Absorptionsvorlagen am Grunde der Schornsteine zu errichten und, im Falle des Steinkohlenrauches, schwefelarme Kohlen zu verwenden. Uebrigens sind die Klagen über Rauchbeschädigungen in Italien viel seltener geworden, seitdem Wasserkräfte die Steinkohlen außer Gebrauch zu setzen gestatten. Pantanelli (Zürich).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Scheibe, A., Die Bestimmung des Milchzuckers in der Milch durch Polarisation und Reduktion. (Milchzeitung. 1901. p. 113; Zeitschr. f. analyt. Chemie.)

Verf. beweist, daß beide Methoden, wie sie bisher geübt worden, mit Fehlern behaftet sind, und formuliert neue, sorgfältig erprobte Vorschriften, bei deren Anwendung er vollkommen übereinstimmende Resultate gewann [1]). Diese Mitteilungen sind nicht allein zum Behufe der bei manchen gärungsphysiologischen Arbeiten auszuführenden Milchanalyse, sondern auch insofern wichtig, als durch sie die Annahme eines zweiten rechtsdrehenden, von Milchzucker verschiedenen, dextrinartigen Kohlehydrats in der Milch, dessen Vorhandensein von Ritthausen vermutet [2]), von Späth und Raumer aus einer Differenz der bei der Polarisation und Reduktion erhaltenen Prozentzahlen abgeleitet wurde, wie Verf. betont, hinfällig wird. Mit dieser Anschauung steht im Einklange, daß Bacillus Delbrücki Leichmann, der den Milchzucker gar nicht angreift, wohl aber Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Rohrzucker, Dextrin vergärt, in Milch keinerlei Gärungserscheinungen hervorruft [3]) und, wie Ref. beobachtete, in peptonhaltigen geklärten Molken überhaupt nicht wächst. Da man obiges Kohlehydrat nur mitunter, nicht in jeder Kuhmilch gefunden haben wollte, empfiehlt es sich, weitere Proben mit Bac. Delbrücki in Milch und Molke verschiedener Herkunft vorzunehmen.

Leichmann (Memel).

1) Vergl. Degrez, L., Dosage du lactose dans le lait. (Revue gén. du lait. T. I. 1902. p. 469) und Patein, M. G., Dosage du lactose dans le lait. (Compt. rend. soc. biol. 1902. No. 18.) Beide Autoren wollen Scheibes Verfahren bei der Bestimmung durch Polarisation nicht zuverlässig finden. Vergl. auch Braun, R., Die Bestimmung des Milchzuckers mit dem Wollnyschen Milchfettrefraktometer im Vergleich zu den analytischen und polarimetrischen Bestimmungsmethoden. (Milchztg. 1901. p. 578.)

2) Die Angaben, worauf Ritthausen seine Vermutung stützte, hat Utz nachgeprüft und sie nicht bestätigen können. (Beitrag zur Milchuntersuchung. Milchztg. 1902. No. 52.)

3) Siehe Leichmann, Centralbl. f. Bakt. Abt II. Bd. II. 1896. p. 281 und Henneberg, ebenda. Bd. VIII. 1902. p. 184.

Uhl und **Henzold, O.**, Zum Nachweis von Alkohol in Milch. (Milchzeitung. 1901. p. 181 u. 248.)

Uhl und Henzold machen folgende Angaben, welche für die analytische Ermittelung der in Milch durch Bakterien gebildeten Stoffwechselprodukte von Bedeutung sind. Sie unterwarfen 100 ccm in offener Flasche durch strömenden Dampf sterilisierter Zentrifugenmagermilch von 5 Säuregraden (Soxhlet) der Destillation mit Wasserdampf und konstatierten, daß die ersten 100 ccm des sauer reagierenden Destillates bei 15° C das spezifische Gewicht 0,9989 besaßen. Das Destillat gab die Jodoformreaktion aber beim Erhitzen mit Eisessig und H_2SO_4 keinen Essigäthergeruch, beim Erwärmen mit Säure Dämpfe, welche Bleipapier schwach bräunten. Mit ammoniakalischer Ag-Lösung Braunfärbung, keine Ag-Ausscheidung; mit einer durch SO_2 entfärbten Fuchsinlösung Rotfärbung, die bei HCl-Zusatz verschwand. Eine bloß aufgekochte Milch von 4,25 und zwei frische rohe Milchportionen von 4,4 und 4,0 Säuregraden, mit denen man eben jene Proben vornahm, ließen eben dieselben Reaktionen erkennen. Die Destillate der beiden letzten Milchportionen hatten das spezifische Gewicht 0,9990. Die in allen Fällen sauer reagierenden Destillate, mit Soda neutralisiert und abermals destilliert, lieferten neutrale Destillate mit übrigens gleichen Eigenschaften wie jene ersten. Bei fortgesetzter Destillation einer und derselben Milchmenge mit H_2O-Dampf wurden immerfort solche Destillate mit den gleichen Eigenschaften gewonnen. Eben dieselben Erscheinungen beobachtete man bei Aufschwemmungen reinen Kaseïns, wenn auch in minderem Grade. Es findet also vermutlich bei der Milchdestillation eine Zersetzung der Eiweißkörper statt, bei welcher geringe Mengen jener durch die gedachten Reaktionen angezeigten Stoffe, H_2S und vielleicht aldehydartige Verbindungen, jedoch kein Aethylalkohol entstehen [1]). Aldehyde könnten aber auch durch Spaltung der Milchsäure hervorgerufen sein, wofern solche in der Milch enthalten gewesen wäre. Als Verff. eine sterilisierte und mit „Milchsäure-Reinkulturen" gesäuerte Milch genau neutralisierten und destillierten, gewannen sie ein Destillat, welches sehr starke Jodoform- und die Aldehydreaktion gab. Sie erinnern daran, daß nach Béchamp geringe Alkoholmengen ein regelmäßiger Milchbestandteil sein sollen, daß Weller [2]) nicht näher angab, auf welche Weise er seiner Zeit Alkohol in der Milch nachgewiesen, und an die Mitteilungen von Teichert [3]), dessen Schlußfolgerungen sie bestreiten.

Leichmann (Memel).

---

1) Vergl. Leichmann, G. und v. Bazarewski, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 248. Anm. 2.

2) Forschungsber. f. Lebensmittelhygiene, forens. Chemie. Pharmakogn. 1897. p. 206.)

3) Ein interessanter Fall des Vorkommens von Alkohol in der Milch. (Milchzeitung. 1901. p. 148 u. 217.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Störmer, K., Die Dufoursche Lösung und ihre Anwendbarkeit zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1903. p. 133.)

Gegenüber den alljährlich zahlreich auftauchenden Bekämpfungsmitteln gegen tierische Schädlinge verdient die alte Dufoursche Lösung, welche viel zu wenig gewürdigt wird, ganz besondere Beachtung. Bei diesem Bekämpfungsmittel wird die abtötende Kraft des Insektenpulvers in wirklich praktischer Weise für den Pflanzenschutz nutzbar gemacht. Nach dem Originalrezept werden 3 kg gelbe Schmierseife in 10 l warmem Wasser gelöst und in diese Brühe nach und nach $1^1/_2$ kg Insektenpulver sorgfältig eingerührt; das Ganze wird schließlich auf 100 l verdünnt. Diese Lösung übertrifft die bewährten Kupferbrühen noch dadurch, daß sie sich nicht nur als Abwehrmittel, sondern auch zur direkten Abtötung eines Schädlings eignet. Außerdem wirkt sie in vorzüglicher Weise vorbeugend, was als ein Hauptvorzug zu bezeichnen ist. Nach den bisherigen Erfahrungen hat sich die Lösung gegen Hopfenblattläuse vorzüglich bewährt und ist auch gegen die Larven des Weidenblattkäfers und gegen die Käfer selbst, sowie gegen verschiedene andere Schädlinge mit Erfolg verwendet worden. Gegen die Blattläuse genügt die Dosierung $1^1/_2$ Proz. Schmierseife und $^1/_2$ Proz. Insektenpulver vollständig zur Abtötung, ja Versuche haben sogar gezeigt, daß man noch unter diese Konzentration gehen kann, falls das Insektenpulver wirklich frisch und edel ist. Bei derartigen Konzentrationen sind die Kosten keine hohen und es ist die Lösung gegenüber reiner Seifenlösung rentabler. In Bezug auf die ökonomische Seite sollen weitere Versuche folgen, doch kann schon jetzt gesagt werden, daß der Preis der Dufourschen Lösung nicht von vornherein ihre Verwendung ausschließt, wenn man sie mit anderen Brühen, z. B. Petroleum- oder Tabaksbrühen, vergleicht. Diesen und anderen Brühen gegenüber hat sie jedenfalls, abgesehen von allen anderen, den großen Vorzug, daß sie, gute Beschaffenheit der Seife, die leicht zu alkalisch sein kann, vorausgesetzt, niemals eine schädliche Wirkung auf junge Pflanzenteile ausübt.

Stift (Wien).

Kirchner, O., Versuche zur Bekämpfung der Getreidebrandkrankheiten. (Naturw. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. Jahrg. I. 1903. p. 465—470.)

Verf. vergleicht die Resultate verschiedener Brandbekämpfungsmethoden miteinander und kommt auf Grund von Versuchen, welche in der k. württ. Anstalt für Pflanzenschutz in Hohenheim ausgeführt wurden, zu folgenden Ergebnissen:

1) Weizensteinbrand. Das beste Resultat ergab die Heißwasser- (54—57°) Methode; demselben stehen wenig nach die Behandlung mit 0,1-proz. Formalinlösung, ferner das Waschen des Weizens mit warmem Wasser (40—42°); daß die mechanische Wirkung — nämlich das Abspülen der Brandsporen — bei der Ent-

brandung mit Flüssigkeiten eine große Rolle spielt, geht daraus hervor, daß Waschen mit kaltem Wasser (17°) die Anzahl der brandigen Aehren sehr reduzierte, wenn auch diese Behandlung nicht als ausreichend für die Beseitigung der Sporen sich erweist. Die Behandlung mit Bordeauxbrühe gibt wenig bessere Resultate als die Anwendung warmen Wassers.

2) Dinkelsteinbrand. Versuche ergaben, daß der Brandpilz des Weizens und derjenige des Dinkels eine und dieselbe Art sind und von der einen Art auf die andere übertragen werden kann.

Auch hier erwiesen sich Formalin- und Heißwasserbeize als sehr wirksam, desgleichen Bordeauxbrühe, doch können — da aus unbekannter Ursache die Brandinfektion wenig wirksam war — keine weiteren — vergleichenden — Schlüsse gezogen werden.

3) Roggenstengelbrand soll außer Roggen auch Weizen und Gerste befallen, wenn auch auf letzteren beiden Pflanzen dieser Pilz in Deutschland noch nicht beobachtet wurde. Diese Frage zu entscheiden wurden außer Roggen Noës Sommerweizen, weißer Sommerdinkel, Selchower Gerste, sowie Heines Traubenhafer auf Parzellen mit Roggenstengelbrandpulver infiziert (0,4 g Sporen auf 100 g Saatgut). Während Roggen reichlichen Befall zeigte, blieben Dinkel, Weizen, Gerste und Hafer, intakt. Die den Stengelbrand dieser Gräser verursachenden Pilze sind demnach wohl von Urocystis occulta biologisch verschieden.

Trotzdem daß die Sporen der verschiedenen Brandpilze verschiedene Widerstandsfähigkeit zeigen gegen die gewöhnlichen Beizmittel, ergaben diesbezügliche Versuche des Verf., daß die zur Bekämpfung des Steinbrandes erprobten Methoden auch bei Roggenstengelbrand wirksam sind.

4) Getreideflugbrand. Die auf diese Krankheit bezüglichen Versuche bieten nichts wesentlich Neues, sondern bestätigen die Beobachtungen von Tubeufs, nach welchen die Ustilago-Sporen eine große Widerstandsfähigkeit gegen Formalin und andere Entbrandungsmittel besitzen. Neger (Eisenach).

Hecke, Ludwig, Beizversuche gegen Hirsebrand. (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1903. p. 765.)

In Fortsetzung früherer Versuche über die Wirkungsweise von Formaldehyd, Kupfervitriol, Schwefelsäure und heißem Wasser gegenüber den beiden Brandarten Ustilago Crameri und U. Panici miliacei, sowie gegenüber dem Saatgut ihrer Nährpflanzen, der Kolben- und Rispenhirse, welche im Laboratorium ausgeführt wurden, hat Verf. weitere Untersuchungen im Freiland angestellt, über welche er eingehend berichtet.

Versuche mit Kolbenhirse.
(Ustilago Crameri auf Setaria germanica, Mohar.)

Beize mit Kupfermitteln. Die kürzeste Beizdauer wendet Linhart an, welcher das Saatgut einer Waschung in 1-proz. Kupfervitriollösung unterzieht, doch ist die Beizdauer, wenigstens bei der Kolbenhirse, nicht vollständig ausreichend, um vor Brand zu schützen. Tubeuf hat mit seiner „Kandierungsmethode“ mittels

Bordeauxbrühe beim Steinbrand des Weizens gute Resultate erhalten, doch reicht auch diese Methode beim Hirsebrand nicht aus und gilt das Gleiche von dem von Tubeuf versuchten pulverförmigen Zusatz von Kupferoxydhydrat. Verf. faßt sein Urteil, auch auf Grund seiner Versuche, dahin zusammen, daß beim Brand der Kolbenhirse Kupfervitriol in keiner der bisher als Beizmittel üblichen Formen geeignet ist, eine vollständige Entbrandung herbeizuführen.

Beize mit Formaldehydlösung. Gegen den Brand der Kolbenhirse empfiehlt sich folgende Beize als die beste und praktischste: Das Saatgut wird ca. 5 Minuten gründlich in einer Lösung von $^1/_2$ Proz. Formalin (also ca. 0,2 Proz. Formaldehyd) gewaschen, wobei alles obenauf Schwimmende abgeschöpft wird; hierauf wird das Saatgut mit reinem Wasser abgespült und getrocknet. Will man das obenauf Schwimmende nicht abschöpfen, um Saatgut zu sparen, so beizt man 3 Stunden in einer $^1/_4$-proz. Lösung von Formalin (= 0,1 Proz. Formaldehyd); bei stark brandigem Saatgut empfiehlt es sich, bei der zweiten Beize die Abspülung mit Wasser zu unterlassen.

Versuche mit Rispenhirse.
(Ustilago Panici miliacei auf Panicum miliaceum.)

Auch hier ist das Kupfervitriol keineswegs im stande, eine genügende Desinfektion zu bewirken. Hingegen hat eine $^1/_2$-proz. Formalinbeize (= 0,22 Proz. Formaldehyd), in der Linhartschen Weise angewendet, das Saatgut vollkommeu desinfiziert. Ein Auswaschen mit Wasser hat nachher zu unterbleiben. Die Keimfähigkeit der Hirse leidet durch diese Beize in keiner Weise.

Beitrag zur Kenntnis der Kupferwirkung.

Frühere Versuche des Verf. haben ergeben, daß bei der Sporenbeize eine Zerlegung des Kupfervitriols in der Weise stattfindet, daß das Kupfer von den Sporen absorbiert wird, während die Schwefelsäure in Lösung bleibt. Durch die vorliegenden Versuche wurde nun der quantitative Nachweis dieser eigentümlichen Tatsache erbracht. Es ist dieser Vorgang so aufzufassen, daß bei der Absorption ein Austausch des Kupfers gegen eine andere Base stattfindet. Hierbei wird freie Schwefelsäure nicht abgeschieden, und es ist noch unbekannt, welche Stoffe gegen das Kupfer ausgetauscht werden. Von Wichtigkeit ist die aus den Versuchen sich ergebende weitere Tatsache, daß bei der Kupferbeize die Höhe der Konzentration und die Beizdauer keinen wesentlichen Einfluß auf die Keimfähigkeit der Sporen hat, daß also die langdauernden Saatgutbeizen mit Kupfervitriol nicht gerechtfertigt sind.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Kornauth, Karl, Bericht über die Tätigkeit d. k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation und der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzen-

schutzstation in Wien im Jahre 1903. (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 3. p. 156—172.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Ein Pasteur mit Turbinenantrieb und ein Vorwärmer von Frederik Christensen in Randers (Dänemark). (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 14. p. 210—212. 2 Fig.)

Heyder, F., Eine Dampfdüse zur Formaldehyddesinfektion für Bier- und Würzeleitungen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 14. p. 185. 1 Fig.)

Schäffer, Zur Milzbrandbacillenfärbung nach Mc. Fadyean. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 7. p. 241—242.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bailey, E. H., Distribution of parasites. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. IX. P. 1. 1904. p. 16—17.)

—, Distribution of parasites. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 78.)

Billet, A., A propos de l'hémogrégarine du crapaud de l'Afrique du Nord. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 11. p. 482—484. 8 Fig.)

—, Sur une hémogrégarine karyolysante de la couleuvre vipérine. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 11. p. 484—485. 6 Fig.)

Boullanger, E. et **Massol, L.**, Études sur les microbes nitrificateurs. 2. mém. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 3. p. 181—196.)

Corti, Alfredo, Una nuova specie di acaro parassita. (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904. N. 14. p. 427—428.)

Courmont, Jules et **Lacomme, Léon**, La caféine en bactériologie. Essai de différenciation du B. d'Eberth et du B. coli. Isolement des streptocoques intestinaux. (Journ. de physiol. et de pathol. gén. T. VI. 1904. N. 2. p. 286—294.)

Fermi, Claudio und **Bassu, E.**, Untersuchungen über die Anaërobiosis. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 6. p. 714—722.)

— —, Untersuchungen über die Anaërobiosis. 1. Abh. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 563—568.)

Fuhrmann, O., Die Tetrabothrien der Säugetiere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 6. p. 744 - 752. 11 Fig.)

Heim, F. et **Oudemans, A.**, Sur deux nouvelles formes de Thrombidium (Acar.), parasites de l'homme. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 11. p. 705—706. 9 Fig.)

Heinze, Berthold und **Cohn, Erich**, Ueber milchzuckervergärende Sproßpilze. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 2. p. 286—366.)

Henneberg, W., Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefe. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. N. 10. p. 96—97; N. 11. p. 105—106; N. 12. p. 116—117; N. 13. p. 128—129.

Henneberg, W., Einfluß verschiedener Milchsäurebacillenarten und einer Essigsäurebakterienart auf die Gärung der Hefe in Getreidemaische. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. N. 9. p. 83—85.)

Hennings, P., Zweiter Beitrag zur Pilzflora des Gouvernements Moskau. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 2. p. 66—73.)

—, Fungi fluminenses a. d. E. Ule collecti. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 2. p. 78—95.)

—, Einige neue Pilze aus Japan. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 2. p. 140—144.)

Hiltner, L., Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin). (Forts.) (Prakt. Blätter für Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. II. 1904. Heft 3. p. 43—46.)

—, Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin). (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 3. p. 127—163. 4 Fig.)

Hooper, T., The spread of parasites. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 22.)

Injurious insects and their parasites. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 39—42.)

van Iterson, jr., C., Die Zersetzung von Cellulose durch aërobe Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 23. p. 689—698. 1 Taf.)

Lewandowsky, Felix, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 1. p. 47—61.)
Looss, A., Zum Bau des erwachsenen Ancylostomum duodenale. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 6. p. 752—762.)
—, Einige Bemerkungen zu Pieris kurzer Erwiderung etc. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 5. p. 602—605. [betr. Ankylostomum].)
Lucet, Les cestodes du dindon, nature zoologique et rôle pathogène. (Rec. de méd. vétér. T. LXXXI. 1904. N. 6. p. 162—168.)
Magerstein, Vinz. Th., Prof. Dr. Büchelers Verfahren zur Herstellung einer 24stündigen Kunsthefe ohne Milchsäuregärung. (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 10. p. 75—76.)
Magnus, P., Ein weiterer Beitrag der Gattung Uredinopsis. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 2. p. 119—125.)
Massee, George, On the origin of parasitism in Fungi. (Proc. of the R. Soc. Vol. LXXIII. 1904. N. 489. p. 118—119.)
Newly introduced Cryptolaemus ladybird (Cryptolaemus montrouzieri). (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 38. 1 Taf.)
Pollak, Alfred, Triebkraftbestimmung der Hefe und Einwirkung von Backhilfsmitteln auf die Teiggärung. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. N. 13. p. 125—126.)
Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 6. p. 657—665. 2 Taf.)
Ringworm in cattle. (Journ. of the Depart. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 51—52. [Trichophyton tonsurans].)
Rostowzew, S. J., Beiträge zur Kenntnis der Peronosporeen. 1. Artikel. (Ann. de l'Inst. agronom. de Moskou. Année IX. 1903. p. 28—49. 20 Fig.) [Russ.]
—, Beiträge zur Kenntnis der Peronosporeen. 2. Artikel. (Ann. de l'Inst. agronom. de Moskou. Année IX. Livre 4. 1903. p. 313—323. 2 Taf. u. 5 Fig.) [Russ.]
Smith, R. G., Bacterial origin of the Gums of the Arabin-group. (Proc. of the Linnean Soc. of New South Wales for 1903. Vol. XVIII. P. 3. N. 111.)
—, Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabingruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 23. p. 698—703.)
T., Die Fortpflanzung der Peronospora durch ein überwinterndes Mycelium. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 13. p. 149.)
Weir, R. E., The gad (or bott) fly. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 1. p. 17—18.)
Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 13. p. 210—214.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Duclaux, E., Études d'hydrographie souterraine. [Suite.] (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 3. p. 197—208. 1 Fig.)
Tenhold, Verfahren bei der Entnahme von Trinkwasserproben für die bakteriologische Untersuchung. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 6. p. 182—183.)

Milch, Molkerei.

Engel, C. S., Welches sind die geringsten Anforderungen, die an eine Säuglingsmilch zu stellen sind. (Berlin. klin. Wchnschr. Jg. XLI. 1904. N. 11. p. 278—282.)
Helm, Wilhelm, Die Einführung der Tiefkühlung in die Praxis. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 13. p. 193—195. 1 Fig.)
Klimmer, M., E. v. Behrings Mitteilung über Säuglingsmilch und Säuglingssterblichkeit. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. VIII. Heft 3/4. p. 289—291.)
Köhler, M. L., Milchsterilisation in den Tropen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VIII. 1904. Heft 4. p. 160—164.)
Lesperance, Joseph, The soluble ferments of cows milk. (Med. Record. Vol. LXV. 1904. N. 12. p. 447—450.)
Müller, O., Ist es in Rücksicht auf die Tilgung der Tuberkulose beim Rindvieh erforderlich, Milch, die sofort separiert und verfüttert wird, vor dem Verfüttern zu erhitzen? (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVIII. 1904. N. 14. p. 314—316.)
O'Callaghan, M. A., Milk fermentations. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 2. p. 111—112. 3 Taf.)

Prettner, Beitrag zur Frage der Infektiosität der Milch von mit Tuberkulose infizierten Tieren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 7. p. 222—224.)

Rawinowitsch, Lydia, Zur Frage der Infektiosität der Milch tuberkulöser Kühe. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. VIII. 1904. Heft 3/4. p. 202—219.)

Trillat, A., Action de la formaldéhyde sur le lait. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 10. p. 457—459.)

—, Action de la formaldéhyde sur le lait. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 11. p. 720—722.)

Fleisch.

Glamann, Die tierischen Schmarotzer der Schlachttiere und ihre Bedeutung für die Fleischbeschau. 3. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. V. 1904. N. 7. p. 115—118.)

Marxer, A., Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes und der Haltbarkeit des Fleisches bei gewöhnlicher Aufbewahrung. (Fortschr. d. Veterinär-Hyg. Jg. I. 1904. Heft 12. p. 328—330.)

Müller, M., Der Reifungsprozeß des Fleisches. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 7. p. 217—221.)

Wein, Weinbereitung.

Chuard, E., Sur un cas particulier de fermentation d'un moût. (Chronique agricole du Canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 2. p. 44—50.)

Delle, Ed., Les phénomènes chimiques du collage. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 27. p. 106.)

Ist ein Zuckerzusatz zum Weine behufs Umgärung desselben mit Reinhefe zweckmäßig und statthaft? (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 13. p. 146—149.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Andrewes, F. W. and **Orton, K. J. P.**, A study of the disinfectant action of hypochlorous acid, with remarks on its practical application. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 6. p. 811—815.)

Bleich, Ueber Desinfektion. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 6. p. 181—182.)

Bormans, Alfonso, Le soluzioni di soda nei servizi di disinfezione. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XV. 1904. N. 7. p. 226—240.)

Schlesinger, Arthur, Ueber Trockensterilisation mittels Formaldehyd. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXXII. 1904. Heft 4. p. 898—903. 1 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Cobb, N. A., Letters on the diseases of plants. Second series. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 1. p. 1. 5 Taf. u. Fig. 123—132.)

Das Auftreten und die Bekämpfung der Reblaus in Tirol. [Schluß.] (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 13. p. 124—125.)

Dementjev, A., Die Chlorose der Pflanzen und ihre Bekämpfung. (Journ. f. experim. Landwirtschaft. Petersburg. 1903. p. 733—735.)

Enderlein, Günther, Nymphopsocus destructor Enderl. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XIX. 1904. Heft 6. p. 727—732.)

Hutcheon, D., Diseases of farm stock and their prevention. (Agricult. Journ. of the Cape of Good hope. Vol. XXIV. 1904. N. 3. p. 345—354.)

Istvanffi, Gy de, L'hivernage de l'oidium de la vigne. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 26. p. 102.)

Masters, W. E., Root-rot in orange-trees. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXIV. 1904. N. 3. p. 328—329.)

Musson, C. T., A fungus disease on garden peas. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 1. p. 81.)

Potter, M. C., On the brown-rot of the Swedish turnip. With a note on the same disease of the cabbage. (Journ. of the board of agric. Vol. X. 1904. N. 3. p. 314—318. 1 Taf.)

Inhalt.

Zusammenfassende Uebersichten.

Winkler, W., Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage. (Schluß), p. 273.

Originalreferate aus bakteriol. und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem physiologischen Laboratorium der österreichischen Versuchsstation für Brauindustrie in Wien.

Zikes, Heinrich, Ueber den Einfluß verschiedener aus Wasser isolierter Bakterienarten auf Würze und Bier, p. 289.
—, Ueber die Einwirkung des Sonnenlichtes auf Glukose, p. 292.
—, Zur Einführung eines neuen Nährbodens für gärungsphysiologische Arbeiten, p. 293.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe, p. 294.

Aus dem Institut für Bodenlehre und und Pflanzenbau der landwirtschaftl. Akademie Bonn-Poppelsdorf.

Wohltmann, F., **Fischer, H.** und **Schneider, Ph.**, Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem (Poppelsdorfer) Versuchsfelde, p. 304.

Referate.

Brizi, V., Sulle alterazioni prodotte alle piante coltivate dalle principale emanazinni gasose degli stabilimenti industriali, p. 327.
Chlopin, G. W. und **Tammann, G.**, Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen, p. 309.
Delacroix, G., Die Gelblaubigkeit der Zuckerrübe (la jaunisse de la betterave), p. 323.
van Hall, C. J. J., Das Absterben der Stöcke der Johannis- und Stachelbeeren, verursacht von Cytosporina Ribis P. Magnus (n. sp.), p. 320.
Heck, Vom Tannenkrebs, p. 319.
Hollrung, M., Gutachten über Schädlinge der Kokospalmo im Bismarckarchipel, p. 319.
Janssens et **Mertens**, Étude microchimique et cytologique d'une Torula Rose, p. 314.
Lindner, P., Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde, mit besonderer Berücksichtigung der biologischen Betriebskontrolle, p. 310.
Mazé, P., Quelques nouvelles races de levures de lactose, p. 312.
Molisch, Hans, Photographieen im Bakterienlichte, p. 310.
Ravaz, L. und **Sicard, L.**, Sur la brunissure de la vigne, p. 322.
Sawamura, S., On the curing of the kaki fruits, p. 315.
Schellenberg, Die Nadelschütte der Arve, p. 317.
Trotter, A., Cecidologia o Cecidiologia, p. 325.
—, Miscellanee cecidologiche, p. 325.
—, Nuovi Zoocecidi della Flora italiana, p. 325.
—, Elenco di galle raccolte in Ispagna, p. 326.
—, Progresso ed importanza degli studi cecidologici, p. 326.
—, Di una forte infezione di Anguillule radicicole in piante di garofano, p. 326.
—, Descrizione di varie galle dell' America del Nord, p. 327.
v. Tubeuf, C., Frhr., Die Gipfeldürre der Fichten, p. 317.
Vaňha, Joh., Blattbräune der Kartoffeln (Dürrfleckigkeit), p. 321.
Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe, p. 311.
Zimmermann, A., Untersuchungen über tropisehe Pflanzenkrankheiten, p. 315.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Scheibe, A., Die Bestimmung des Milchzuckcrs in der Milch durch Polarisation und Reduktion, p. 328.
Uhl und **Henzold, O.**, Zum Nachweis von Alkohol in Milch, p. 329.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hecke, Ludwig, Beizversuche gegen Hirsebrand, p. 331.
Kirchner, O., Versuche zur Bekämpfung der Getreidebrandkrankheiten, p. 330.
Störmer, K., Die Dufoursche Lösung und ihre Anwendbarkeit zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen, p. 330.

Neue Litteratur, p. 332.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. **Jena**, den 14. Juli 1904. **No. 11/16.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien.

[Arbeit aus dem botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **Ernst Neide**.

Mit 3 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Bacillus lactis Flügge.

Sehr wahrscheinlich synonym: B. lactis Flügge I (Flügge, Die Aufgaben u. Leistungen der Milchsterilisierung. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 294).

Möglicherweise synonym: B. cylindrosporus (Burchard, Beiträge zur Morph. u. Entwickl.-Gesch. d. Bakterien. In.-Diss. 1887. Arb. aus d. bakt.

Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe. 1898. Bd. II. Heft 1. p. 31). — B. amarificans (Bleisch, Ueber bittere Milch u. die Sterilisierung d. Milch durch Erhitzen unter Luftabschluß. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893. p. 81). — B. agglomeratus syn. mit Bacillus No. 5 Pansini (Bakt. Studien über d. Auswurf. Virchows Arch. Bd. CXXII. 1890. p. 441). — B. lutulentus (Kern, Beitrag zur Kenntnis der im Darm u. Magen der Vögel vorkommenden Bakterien. Arb. aus d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. Karlsruhe. Bd. I. 1896. Heft 4. p. 402).

Wie Bacillus lactis Flügge V, verdanke ich auch die Originalkultur dieser Species der Liebenswürdigkeit des Herrn Autors. Die Einschränkung in Betreff der Identität mit der ursprünglichen, von ihm bearbeiteten Species wurde in gleicher Weise für Bacillus lactis Flügge I von ihm geltend gemacht.

Sporen. Die normale Sporenform ist cylindrisch walzenförmig mit flachen (Fig. VI a 1, 3, 5), bisweilen mit mäßig konvexen Polenden (Fig. VI a 2, 4). Außer den cylindrischen kommen auch ovale Formen mit konvexen, mitunter an einem Ende zugespitzten Polenenden (Fig. VI a 6, 7), sowie gekrümmte Sporenformen vor (Fig. VI a 8, 9). Die normalen Sporen sind 2,0 μ lang, 0,95—1,0 μ breit, die größten 2,5 μ lang und 1,0 μ breit, die kleinsten 1,5 μ lang, 0,75 μ breit. Die ovalen Sporen sind im Durchschnitt 1,3 μ lang und 0,9 μ breit. Die Sporenmembran ist ungefärbt und mit den gebräuchlichen Farbstoffen gut sichtbar und mittelstark. Exine und Intine sind bei jungem Sporenmaterial nicht zu differenzieren, hingegen mit Safranin und Fuchsin an über 4 Wochen altem Material.

Die Intine ist etwas breiter als die Exine. Nach Gram gefärbt, wird die Intine weniger gut sichtbar. Die Exine erscheint stärker. Die Keimung tritt nach ca. 4 Stunden ein. Sie erfolgt rein polar und zwar ausschließlich unter Durchstoßen eines Endes der Sporen (Fig. VI b 1—4). Die Sporen schwellen hierzu nach Länge und Breite sehr stark 1,9 μ zu 3,5 μ (Fig. VI a 10). Die Sporenmembran hängt den Keimstäbchen nicht sehr lange an. Nur einmal wurde von mir ein 2-stäbiges Keimstäbchen mit anhaftender Sporenmembran beobachtet. Selten haftet auch die Sporangienmembran der Sporenklappe noch an (Fig. VI b 5, 6).

Die Keimstäbchen (1-lang = 3,9 μ). Die Keimstäbchen werden fast 2-lang und 1,2 – 1,4 μ breit. Die erste Septierung (Chlorzinkjod) fand sich bei einer Länge von 5,0 μ. Der Protoplast ist ungefärbt nicht homogen (Zellstoffvakuolen). Mit Methylenblau v ist der Protoplast mit vielen kleinen, rundlichen, weißen Stellen durchsetzt. Fett und Volutanskugeln lassen sich jedoch noch nicht nachweisen. Die Membran ist breit, schleimig.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. Nach 8 Stunden enthält die Kolonie vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen. Die Stäbchen sind 1- bis 2-zellig und 1- bis 2-lang, 0,8—1,0 μ breit. Weniger findet man 4—8-stäbige Fäden (Fig. VI c 1—4). Mit Methylenblau 1 + 10 treten starke Volutanskugeln auf. Diese liegen bemerkenswerterweise vielfach den Teilsepten an und korrespondieren einer entsprechend kleinen Volutanskugel an der anderen Seite der jungen Septe (Fig. VI c 3). Auch ist schon ziemlich viel Fett gespeichert.

Im Kondenswasser sind noch viele nicht gekeimte Sporen vorhanden, Einzel- und Doppelstäbchen und bis 32-stäbige Fäden, deren Stäbe 1- bis 2-lang und 1—2-zellig sind. 14 Stunden nach der Impfung sind Einzel- und Doppelstäbchen, vorherrschend aber 4-stäbige Fäden vorhanden, welche durch weitere Teilung bis zu 10-stäbigen Fäden anwachsen (Fig. VId 1). Im oberen Drittel der Kultur sind die Einzel- und Doppelstäbchen, im unteren die Fäden stärker vertreten. Die Stäbchen der Einzel- und Doppelstäbchen sind meist 1- bis 2-lang, diejenigen der Fäden gewöhnlich kürzer, bis $^{1}/_{2}$-lang. Die Breite beträgt 1,2 μ (Fig. VId 2—5). Die normalen Oidien haben, mit wenigen Ausnahmen, abgeflachte gerade Endflächen. Ausnahmen hiervon bilden einige abweichende Formen, in denen die Stäbchen bis 1,6 μ Breite angeschwollen sind, bisweilen auch in den Endstäbchen der Fäden schwach konisch zulaufen (Fig. VId 6, 7). Die Stäbchen haben sehr große Volutanskugeln und viel Fett. Die Volutanskugeln treten erst nach Zusatz von 1-proz. Schwefelsäure deutlich hervor. Im Kondenswasser sind in diesem Wachstumsstadium viele mäßig bewegliche Einzelstäbchen, weniger bis 10-stäbige Fäden entwickelt. Nach 20 bis 24 Stunden haben die Einzel- und Doppelstäbchen im Vergleich mit den Fäden an Zahl zugenommen. 8- oder mehrstäbige Fäden sind wenig vorhanden. Meist sind sie dann ungleichmäßig septiert und stäbig. Auch kommen Doppelstäbe mit 1- bis 2-langen, nicht septierten Stäben vor. Einzelstäbchen sind mehrfach weniger als 1-lang. Fettspeicherung und Zahl der Volutanskugeln in den Zellen haben sich gegen die vorige Periode vermehrt. Nach 36 bis 40 Stunden finden sich Sporenanlagen in allen Stufen der Reife bis zu freien Sporen. Einzel- und Doppelsporangien bilden die Mehrzahl (Fig. VIe 1—4). In den Sporangien finden sich nur selten schräg gestellte, meist endständige, weniger mittelständige Sporen. Bisweilen kommen unter den Einzelsporangien abgerundete eiförmige Bildungen vor (Fig. VIe 5, 6). Fast kugelförmige Sporangien finden sich auch in Fäden mit sonst normalen Stäben (Fig. VIe 8). Charakteristisch erscheint der schnelle Zerfall der Sporangienmembran und die Auflösnng der Protoplasmareste. Die in dem Entwickelungsgang nach 14 Stunden erwähnten abweichenden Formen (Fig. VId 6, 7), erscheinen in diesem Stadium in vergrößerter und ausgeprägterer Form, wenn auch nicht eben häufig (Fig. VIe 9, 10). Im Kondenswasser sind Einzel- und Doppelstäbchen und zahlreiche bis 16-stäbige Fäden entwickelt, Sporangien nur wenig. Nach 48—52 Stunden finden sich meist freie Sporen, dann 1- bis 8-stäbige Sporangien. Am meisten sind die 2-stäbigen, dann die 4-stäbigen Fäden vertreten ohne oder mit nur sehr kleinen Volutanskugeln. Das Kondenswasser enthält Einzel- und Doppelstäbchen mit wenig Sporangienbildung und wenig freien Sporen. Die Fäden sind 4-stäbig, seltener 8-stäbig mit wenig Sporenanlagen. Nach 3 Tagen findet man auf Agar fast nur freie Sporen und Sporangien. Das Kondenswasser enthält Einzel- und Doppelstäbchen, dann 4—6-stäbige und bis 80-stäbige Fäden mit sehr wenig Sporenanlagen, nebst freien Sporen.

Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. B. lactis Flügge entwickelt sich hier wesentlich anders als auf Dextroseagar. 15 Stunden nach der Impfung findet man viele 8- bis 12-stäbige, auch 2- bis 4-stäbige Fäden, weniger Einzel- und Doppelstäbchen. Die Stäbchen sind weniger kräftig, als auf Dextroseagar. Sie nehmen die Färbung mit Methylenblau k zum Teil nur schwach an und zeigen sehr viele große, weiße Stellen. Zwischen den normal breiten Stäben der Fäden kommen breitere und vielfach erheblich schmalere als auf Dextroseagar vor 0,8 μ : 1,2 μ. Sie sind gewöhnlich mehr 2-, wie 1-lang. Die Fettspeicherung ist eine geringe. Volutanskugeln finden sich nur ganz vereinzelt. Die Membran erscheint im Gegensatz zu den Stäbchen auf Dextroseagar stark (Fig. VIf 1). In sehr vielen Stäben sind schon die Sporenanlagen in der Bildung begriffen. Das Kondenswasser enthielt viel lebhaft bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen, auch 6- bis 7-lange, 2- bis 4-zellige Stäbchen. Nach 24 Stunden zeigte die Kolonie neben zahlreichen Sporangien mit ausgereiften Sporen viel freie Sporen. Die Sporen waren fast ausschließlich cylindrisch, die ovalen sehr selten (Fig. VIf 2, 3). Es kommen aber mehrfach gebogene Sporen vor. Diese liegen einzeln verstreut in den Sporangien der Fäden, mitten zwischen sonst ganz normal gestalteten Sporen.

Die Beweglichkeit ist auf Dextroseagar in allen Stadien der Entwickelung eine geringe. Zwischen 10 und 18 Stunden nach der Keimung beobachtet man an wenigen Einzel- und Doppelstäbchen eine sehr langsame Bewegung, während sich im Kondenswasser die Stäbchen von 14 Stunden an bis zu 3 Tagen meist in lebhafter Bewegung befinden. Die Färbungsversuche brachten niemals zahlreiche Geißeln zur Darstellung. Sie waren nur vereinzelt an den Stäbchen verteilt, ohne daß Verquellungen oder abgeworfene Geißeln gefunden wurden. Auch 4-stäbige, je 2-zellige Fäden zeigten vereinzelte Geißeln. Diese im Verhältnis zur Größe der Stäbchen kurz und fein (Fig. VIc 5). Die Darstellung erfordert 6—10' langes Beizen und Färben mit Säureviolett. Das Erhitzen des Farbstoffes ist ohne Einfluß auf die Färbung.

Agarstrichkultur. Auf Dextroseagar ist die Kolonie nach 15 Stunden grauweiß, mattglänzend, nach 24 Stunden weiß, dünn, gleichmäßig. Das Kondenswasser ist klar, mit einem weißlichen, wolkigen Niederschlag. Nach 36 Stunden sieht der Belag trocken und hautartig aus, bleibt aber mit der Nadel leicht abnehmbar und ist im Wasser leicht zu verreiben. Nach 48 Stunden hat sich auf dem Kondenswasser ein dünnes Häutchen gebildet. Nach 72 Stunden wird die Kolonie weicher, schleimiger, glänzender. Sie wächst nach hinten in den Agar hinein. Im Kondenswasser ist der Niederschlag mehr häutig. Die Flüssigkeit selbst bleibt klar. Der Agar bräunt sich nach 6 Tagen im oberen Teil nur wenig. Auf Agar ohne Dextrose zeigt die Kolonie nach 15 Stunden ein graueres, trockeneres, weniger homogenes Aussehen, wie auf Dextroseagar. Es bleiben besonders an den Rändern längere Zeit einzelne Kolonieen für sich bestehen. Auch nach 24 Stunden ist der Belag weit weniger kräftig und homogen und erreicht selbst nach längeren Tagen nicht das weiße, fast glänzende Aussehen der Dextroseagarkolonie.

Agarstich. Nach 3 Tagen hatte sich die Kolonie bei Zimmertemperatur an der Oberfläche und im Stich nur wenig entwickelt. Im Brutschrank bei 28° Temperatur war nach weiteren 3 Tagen die Oberfläche vollständig mit einer gelbgrauen, trockenen, körnigen Kolonie bedeckt. Im Stich war diese bis auf den Boden als breiter, mit gelappter Begrenzung versehener Streifen gewachsen. Dasselbe Aussehen im Stich besaß nach 4 Wochen eine andere dauernd bei Zimmertemperatur gehaltene Agarstichkultur. Auf der Oberfläche derselben hatte sich jedoch ein dicker, milchweißer am Rande durchscheinender Belag über $^2/_3$ der Fläche ausgebreitet.

Gelatineplatte. Nach 3 Tagen bemerkt man makroskopisch kleine, weiße, hingehauchte Pünktchen von verschiedener Stärke und Begrenzung. Mikroskopisch stellen sie sich als hellbraune, meist rundliche, aber sehr mannigfach gestaltete Kolonieen dar, oval, elliptisch, mit Ecken und kleinen Ausbuchtungen. Der Rand ist glatt abgesetzt, das Innere fein gestrichelt. 4 Tage nach der Impfung sind die einzelnen Kolonieen mit größeren Aus- und Einbuchtungen versehen, an der Peripherie mehr weißgrau, aber noch scharfrandig. Am 5. Tage beginnt die Platte zu verflüssigen, am 6. schwimmen die Kolonieen, in sich zusammenhängend, milchhautartig in der Flüssigkeit. Geruch nach Fleischextraktbouillon. Gelatinestich. Die Entwickelung ist vom 3. Tage an eine gute. Auf der Oberfläche wächst eine glänzende, milchweiße Kolonie, die vom 4. Tage an einzusinken beginnt. Im Stich war eine zusammenhängende Reihe kleiner, körniger Kolonieen bis auf den Boden des Reagenzglases entstanden, von welcher in Zwischenräumen von ca. 1 cm an einzelnen Stellen feine haarige, mycelartige Ausläufer ca. 1—2 mm lang ausgingen. Nach 8 Tagen war die Oberflächenkolonie ca. 3 mm eingesunken. Nach 4 Wochen hatte sich in die oben schlauchartige Erweiterung eine $^1/_2$ cm lange Kolonie hineingesenkt. Die untere Kolonieenreihe war röhrenartig erweitert. Eine Verflüssigung der Gelatine, die übrigens eine große Konsistenz besaß, war nach dieser Zeit noch nicht zu bemerken. Hingegen nach 5 Wochen bei höherer Zimmertemperatur. Kartoffelscheibe. Die Entwickelung des Bacillus ist bei Zimmertemperatur im allgemeinen schwach. Nur allmählich entsteht nach mehrmaligem Impfen eine hautartige, dünne, graue Kolonie. Noch nach 14 Tagen war der Belag fast durchscheinend und uneben und der Oberfläche des Nährsubstrats angeschmiegt. Nach 4 Wochen zeigt sich makroskopisch ein nur wenig ausgebreitetes Wachstum. Mikroskopisch bestand die Kolonie hauptsächlich aus Sporen und Einzelstäbchen, demnächst aus mehrstäbigen, wenig kräftigen Fäden. Möhrenscheibe. Das Wachstum ist bei Zimmertemperatur ein mäßiges. Stellte ich dagegen die Kultur bei 28° in den Brutschrank, so entwickelte sich nach 3—7 Tagen eine dünne, weiße, fast blätterige, trockene, nicht glänzende Kolonie. Nach 6 Tagen bestand dieselbe meist aus Doppelstäbchen mit außerordentlich viel Fett und mit sehr großen Volutanskugeln. Bei Zimmertemperatur weiter gehalten, sistierte das Wachstum wieder und hatte nach 4 Wochen dasselbe Aussehen wie nach 8 Tagen. Nur

war die bisher weiße trockene Kolonie etwas weicher geworden. Sie bestand fast ausnahmslos aus normalen Sporen mit wenig verstreuten degenerierten Stäbchen.

Entwickelungsgang in Nährlösung.

Die Sporen von Bacillus lactis Flügge keimen in N.L. I, III und Vα. N.L. I: Nach 48 Stunden hatte sich in der klaren Lösung ein geringer, aus dünnen Häutchen bestehender Niederschlag gebildet. Sehr viel Doppelstäbchen mit 1- bis 2-langen Stäbchen, zum Teil schon als Sporangien und freien Sporen. Daneben 4—8-stäbige Fäden mit 2- bis 3-langen Stäbchen, mit Auftreibungen und ziemlich viel Fett. Volutanskugeln mit Sicherheit nicht nachweisbar. N.L. III: Die Keimung erfolgt erst nach 4 Tagen. Nach 6 Tagen vereinzelte, bewegliche Doppelstäbchen. Lösung vollständig klar. N.L. Vα. Nach 48 Stunden Lösung getrübt und nach dem Schütteln zahlreiche kleine schuppenartige Blättchen. Bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen, auch 3-stäbige Fäden in Bewegung, mit Fett und Volutanskugeln.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen: Nach 4-wöchentlicher Entwickelung bei 28°: N.L. 0: Lösung klar, mit starkem, häutigem Niederschlag, der sich beim Schütteln in zusammenhängender Masse emporhob und sofort wieder niedersank. Am oberen Rande dünner, weißer, trockener Glasbelag. Sehr viele Sporen noch mit Resten von Sporangienmembran umgeben, 2—4-stäbige schmale Fäden ohne Fett. Selten 1- bis 6-langer, unregelmäßig stäbiger und septierter Faden. Alkalisch. I: Lösung klar. Wolkiger, beim Schütteln sich leicht auflösender und die Flüssigkeit gleichmäßig trübender Niederschlag. 1—4-stäbige Fäden mit Fett und Neigung zu Involutionsformen. Keine Sporen. Die Lösung riecht nach Buttersäure, reagiert aber mit Lackmus neutral. II. Lösung klar. Dicker, flockiger, zusammengeballter Niederschlag. An der Oberfläche hellbrauner, sahniger Rand. Viele Sporen, um welche sich zum Teil noch die Sporangienmembranen erhalten haben. — III. mit feinkörnigem Niederschlag. Vergl. Entwickelungsgang. V: Lösung klar. Geringer feinkörniger Niederschlag. Viel Einzel- und Doppelstäbchen und 3—6-stäbige Fäden, meist wenig kräftig, aber mit Volutanskugeln. Schwach Alkali. Vα: Lösung klar, mit dichtem, ganz kleinflockigem, gelbbraunem Niederschlag. 2—6-stäbige Fäden mit Fett und Volutanskugeln, besonders viel lange bis 100-stäbige, fettführende, aber involutionsförmige Fäden. Vγ: zarthäutiger Niederschlag, der die klare Lösung nach dem Schütteln wenig trübt. Ganz vorherrschend Einzel- und Doppelstäbchen, meist etwas angeschwollen und mit wenig Fett. Dazwischen bis 8-lange, wenig stäbige, schmale Fäden. Vδ: Lösung trübe, oben dünner Rand. Bewegliche bis 2-lange Einzel- und Doppelstäbchen; dazwischen bis 6-stäbige Fäden mit Fett und Volutanskugeln. Einzelne Sporangienzellen und ziemlich viel freie Sporen. Alkali. VI: Die klare Lösung mit vielen kleinen ganz weißen Körnchen durchsetzt, die besonders an der Wand des Reagenzglases haften. Auf dem Boden ein ganz feinkörniger, weißer Niederschlag. Sehr viel Sporen, die auffallend lang und ausschließlich stäbchenförmig gestaltet sind. Wenig Einzelstäbchen und 2—4-stäbige Fäden mit kurzen, dicken, große Fetttropfen führenden Zellen. VII: Am Boden wolkiger, teilweis häutiger Niederschlag in der klaren Lösung. Sporen sind dicker als in VI. Daneben viele bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen mit Fett. IX: Lösung leicht getrübt, mit ungleichmäßig dicker, weißer, zäher, milchhautartiger Kahmhaut. Vorherrschend bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen, weniger 3—4- und mehrstäbige Fäden mit kleinen Fetttropfen und vereinzelten Sporenanlagen. Längere Fäden ganz vereinzelt. X: Braungelbe, dicke, beim Berühren des Glases zu Boden sinkende Kahmhaut und flockiger Niederschlag. Oben braungelber Rand. Sehr lange, wenig stäbige und septierte Fäden. Stellenweise Fett und Volutanskugeln. — IV, Vβ, VIII, XI kein Wachstum.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	2	3—4	0—1	0	1	1—2	0	2	2	1—2	1—2	0	2	3—4	0

Alkalibildung findet statt in N.L. 0, I, V, Vδ. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. N.L. I 10 ccm = 0,0 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. — Entwickelung bei 28° nach 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 6,6 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) nach 14 Tagen 10 ccm = 6,7 cm $^1/_{10}$ N.Schw. 3) nach 4 Wochen 10 ccm = 7,5 cm $^1/_{10}$ N.-Schw.

Reservestoffe: Fett und Volutin. Gasbildung: fehlt. Diastasebildung: In N.L. I nicht vorhanden. Die Gelatine wird verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 40′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol: 1 Std. 30′—50′.

Die Beziehungen des Bacillus lactis Flügge zu Bacillus Petasites.

Flügges Angaben (1894. p. 294) über den Bacillus I treffen auf die mir vorliegende Species so weit zu, daß an der Identität beider ein Zweifel nicht entstehen kann.

Unter den von Gottheil beschriebenen fettbildenden Bakterien weist nur der Petasites Aehnlichkeiten in der Sporenform und Größe und in der Anschwellung der Sporen vor der Keimung auf. Das Fehlen der Volutinbildung bei B. Petasites, die Art seiner Keimung, die Zeit seiner Entwickelung von Spore zu Spore, sein Verhalten in den verschiedenen Nährlösungen, schließlich das leichte Unterscheidungsmerkmal in dem rotbraunen Aussehen der Agarstrichkultur geben genügende Anhaltspunkte zur raschen Unterscheidung von B. lactis Flügge.

Wichtigste Merkmale der Species Bacillus lactis Flügge.

Spore: Sporenform: normal cylindrisch walzenförmig (Fig VIa 1—3), ovale seltener (Fig. VIa 4, 5). Die Sporenmembran ist ungefärbt und mit den üblichen Reagentien als ziemlich starke Linie sichtbar. Sporengröße der cylindrischen Sporen: 2,0 μ lang, 0,95—1,0 μ breit; der ovalen Sporen: 1,3 μ lang, 0,9 μ breit. Exine und Intine sind am besten an älterem Sporenmaterial mit Fuchsin v und Safranin zu differenzieren. Die Sporen schwellen vor der Keimung stark an (Fig. VIa 10). Die Keimung erfolgt polar (Fig. VIb 1—6). Die Keimstäbchen werden 2- bis 3-lang und 1,2—1,4 μ breit. Auf Dextrose-Agar nach 14 Stunden vorherrschend 4-stäbige, demnächst 8—10-stäbige Fäden neben zahlreichen Einzel- und Doppelstäbchen. Die Stäbchen sind 1- bis 2-lang und ca. 1,2 μ breit. Sie haben viel Fett und große Volutanskugeln. Nach 36 Stunden sind Sporangien in allen Stadien der Reife bis zu freien Sporen vorhanden. Die Sporen sind end- und mittelständig und liegen meist parallel zu den Seitenmembranen. Die rasche Auflösung der Sporangienmembran und des Protoplasten ist bemerkenswert. Die Beweglichkeit auf festem Nährboden ist gering, die Begeißelung peritrich (Fig. VIc 5). Die Intensität des Wachstums in den Nährlösungen II und X = 3—4, IX = 2, IV, Vβ, VIII = 0 ist charakteristisch. Die Agarstrichkultur nach 15 Stunden ist grauweiß, mattglänzend, nach

24 Stunden weiß, dünn, gleichmäßig. Nach 48 Stunden bildet sich auf dem Kondenswasser ein dünnes Kahmhäutchen. Die Kolonie wird nach 3 Tagen weicher, glänzender, schleimiger. Die Kartoffelkultur sowie die Kolonie auf der Möhrenscheibe zeigen bei Zimmertemperatur nur geringes häutiges Wachstum. Alkalibildung in Nährlösungen 0, I, V, Vδ. Reservestoffe: Fett und Volutin. Gasbildung fehlt. Diastasebildung: in N.L. I nicht vorhanden. Die Gelatine wird verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°:40'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol: 1 St. 30'—1 St. 50'.

Bacillus parvus A. M. et Neide.

Möglicherweise synonym: B. leptodermis (Burchard, Beiträge zur Morph. u. Entwickel.-Gesch. der Bakterien. (In.-Diss. 1897. Arbeiten aus d. bakt. Inst. d. Techn. Hochschule Karlsruhe. 1898. Bd. II. Heft 1. p. 33.) — B. laevis (Grace and Percy Francland, Philos. Transact. of the R. Society of London. Vol. CLXXVIII. 1887. B. p. 278). — B. coccoideus synonym mit Bacillus No. 6 (Pansini, Bakteriol. Studien über den Auswurf. Virchows Archiv. Bd. CXXII. 1890. p. 442). — B. geniculatus (W. de Bary, Beitrag zur Kenntnis der niederen Organismen im Mageninhalt. In.-Diss. Straßburg. Leipzig. 1885). — B. leptosporus (L. Klein, Botanische Bakterienstudien. Centralbl. f. Bakt. 1889. Bd. VI). B. tenuis (Duclaux) Mig. synonym mit Tyrothrix tenuis. (Duclaux, le lait 1889). — B. intermedius, synonym mit B. lactis Fl. X. (Flügge, Die Aufgaben u. Leistungen der Milchsterilisierung. Zeitschr. f. Hyg. 1894. Bd. XVII. p. 296). — Gottheil setzt B. leptodermis syn. mit B. pumilis.

Diese Species wurde unter den von Grimme (s. Einl.) aus dem Pferdemist isolierten Bacillen gefunden.

Die Sporen des Bacillus parvus sind ganz vorherrschend cylindrisch stäbchenförmig mit in der Regel flachen Polen (Fig. VIIa 1—3). Konvexe Pole, die mäßig zugespitzt erscheinen, sind seltener (Fig. VIIa 4—8). Auch kommen ovale Sporen vor. Diese sind meist kürzer als die cylindrischen (Fig. VIIa 10, 11). Anormale Formen finden sich nur ausnahmsweise. Die Sporenmembran ist ungefärbt und mit den gewöhnlichen Reagentien als dünne Linie zu erkennen. Exine und Intine waren jedoch bei der geringen Größe der Sporen mit Sicherheit nicht zu differenzieren. Die normalen Sporen sind 1,1 μ bis 1,2 μ lang und 0,35 μ bis 0,4 μ breit. Die längste Spore war 1,45 μ lang, 0,4 μ breit. Die kleinsten 1,0 μ lang, 0,35 μ breit, die ovalen Sporen 1,0 μ lang, 0,55 μ breit. Als Ausnahme wurde eine Spore von 0,6 μ Breite gemessen.

Die Keimung. Die Keimung beginnt auf Dextroseagar bei 28° nach 5—6 Stunden. Sie erfolgt aber nicht regelmäßig. Noch 8—10 Stunden nach der Impfung werden zwischen den Schwärmoidien ziemlich viel ungekeimte Sporen gefunden. Im allgemeinen ist die Anschwellung der Sporen vor der Keimung eine starke (Fig. VIIa 12, 13). Sie werden bis 0,8 μ breit und 1,8 μ lang. Die Keimung erfolgt hauptsächlich polar, unter Durchstoßen eines Polendes. Die Sporenmembran sitzt den Keimstäbchen oft dicht auf (Fig. VIIb 1—4). Zu etwa einem Viertel erfolgt die Keimung auch äquatorial, unter einseitigem Aufreißen der Sporenmembran (Fig. VIIb 5, 6).

Die Keimstäbchen. (1-lang = 1,9 μ). Sie werden vor der ersten Septierung bis 2-lang und 0,5—0,7 μ breit. Man findet 2-zellige häufiger, 2-stäbige selten. Die Sporenmembran wird rasch abgeworfen. Der Protoplast der Keimstäbchen erscheint ungefärbt nicht homogen, namentlich an den Polen sieht man stärker lichtbrechende Stellen von zum Teil großer Ausdehnung.

Die Membran ist ungefärbt nicht zu erkennen. Mit Methylenblau v erscheint die Membran stark und schwarzblau, mit Fuchsin als ziemlich starke rote Linie.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. Der Entwickelungsgang des B. parvus ist ein ungemein einfacher. Noch nach 24 Stunden sind auf Agar nur Einzel- und Doppelstäbchen 1- und 2-zellig vorhanden, die noch in lebhafter Teilung und Zerfall begriffen sind. Die 2-zelligen Einzelstäbchen wachsen zu Doppelstäbchen aus und trennen sich wieder in Einzelstäbchen. Die Stäbchen sind meist 1-lang und 0,6—0,7 μ breit (Fig. VIIc 1—3). Es kommt jedoch, wenn auch nicht häufig, vor, daß einzelne Stäbchen bis 4-zellig und dabei 2- bis 3-lang werden. Ausnahmsweise fanden sich einzelne 6-lange 3-stäbige Fäden (Fig. VIIc 4—6). Der ungefärbt nicht homogene, sondern mit verschieden stark lichtbrechenden Stellen ausgestattete Protoplast wird mit Methylenblau k und mit Fuchsin fast völlig homogen. Mit Jodjodkalium sch glaubte ich bei günstiger Beleuchtung, namentlich an der Membran angelagert, schwache Spuren von Glykogen zu erkennen. Das Kondenswasser ist leicht getrübt. Es enthält Einzel- und Doppelstäbchen, die mehr 2-lang als 1-lang sind und vereinzelte 4-stäbige Fäden mit je 1-langen Stäbchen. Nach 36—40 Stunden hat die Sporangienbildung begonnen. Die Einzelstäbchen sind jetzt bedeutend in der Mehrzahl und meist nur $^1/_2$-lang, weniger bis 1-lang und darüber. Meist 1- und 2-zellig, haben sie im Durchschnitt 0,5 μ Breite. Auch die Doppelstäbchen haben bisweilen sehr kurze Stäbe. Selten sieht man einmal einen 4-stäbigen Faden, dessen Stäbe aber nur in losem Zusammenhang stehen (Fig. VIId 1). Bei heller Beleuchtung glaubte ich bisweilen Volutanskugeln zu sehen. Doch ist bei der Kleinheit des Objekts die Entscheidung unsicher. Bei Zusatz von Jodjodkalium sch zur Methylenblaufärbung erscheinen in manchen Stäbchen kleine dunkele Kugeln. Die Reaktion mit Karbolfuchsin und 1-proz. Schwefelsäure ließ hingegen rote Kugeln nicht in die Erscheinung treten. Die Sporangien haben im Durchschnitt eine Länge von 1,9 μ und eine Breite von 0,4—0,5 μ. Die Sporenanlagen sind meist endständig, weniger mittelständig. Die Sporangien mit mittelständigen Sporen sind in der Regel in der Mitte etwas angeschwollen und erhalten dadurch ein mehr elliptisches Aussehen (Fig. VIId 3—9). Die reifen Sporen in den Sporangien erscheinen bei Färbung mit Methylenblau k und Fuchsin bei mittlerer Einstellung auffallend weiß. Im Kondenswasser sind noch keine Sporangien entwickelt. Nach 50 Stunden besteht die Kolonie vorwiegend aus freien Sporen, deren Membran keine Protoplasten- oder Sporangienmembranreste mehr an sich hat. Doch sind daneben noch zahlreiche Sporangien vorhanden. Ziem-

lich häufig treten auch 3- und 4- bis 8-stäbige Fäden auf, deren Stäbe meist 1-lang, mehrfach angeschwollen und nur ganz ausnahmsweise mit einer vereinzelten Sporenanlage ausgestattet sind. Nach 72—76 Stunden finden sich neben den freien Sporen und Sporangien viele einstäbige kraftlose und protoplasmaleere Einzel- und Doppelstäbchen, meist 1-lang und 2-zellig. Anscheinend hat sich die Zahl der ovalen, mittelständigen Sporangien vermehrt. Mit Methylenblau k läßt sich indes nachweisen, daß dieselben zum Teil ursprünglich endständige Sporangien sind, deren reduzierte Protoplasmareste den Sporen noch anhaften. Im stark getrübten, mit einer Kahmhaut sich überziehenden Kondenswasser befinden sich bis 1—2-lange, meist 1-zellige Einzel- und Doppelstäbchen, seltener 4-stäbige Fäden. Einzelne Stäbchen gaben anscheinend schwache Glykogenreaktion (Fig. VIId 10).

Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. In morphologischer Hinsicht ließ sich kaum ein Unterschied zwischen dem Wachstum auf den beiden verschiedenen Nährböden feststellen. Nach 24 Stunden waren die Oidien im Durchschnitt nicht so kräftig. Nach 40 Stunden zeigten die Sporangien häufiger die ovale Form. In biologischer Beziehung zeigte sich, wie bei anderen Species, eine schnellere Entwickelung auf Agar ohne Dextrose, sodaß nach 40 Stunden schon viel freie Sporen und die Sporangien in überwiegender Zahl vorhanden waren. Das Kondenswasser war nach dieser Zeit klar und hatte ein lose gefügtes Häutchen.

Die Beweglichkeit des B. parvus ist zu allen Entwickelungszeiten, von der Keimung an bis zum 3. Tage, eine lebhafte. Im Kondenswasser hält dieselbe noch bis zum 6. Tage an. Die Begeißelung ist peritrich. Zur Darstellung der langgeschwungenen Geißeln genügt ein 3' langes Beizen und eine ebenso lange Färbung mit Säureviolett, ohne Erhitzen des letzteren (Fig. VIIc 8).

Agarstrich. 20 Stunden nach der Impfung ist die Dextroseagarkolonie glasig, durchsichtig, feingekörnt. Bei der Abnahme mit der Nadel erscheint sie grau-weiß. Nach 40 Stunden sieht sie weißlich-gelb, homogen, etwas häutig, mattglänzend aus. Die häutige Beschaffenheit macht sich beim Abnehmen mit der Nadel und beim Verreiben des Materials im Wasser besonders bemerkbar. Nach 3 Tagen überzieht sich die Kolonie im unteren Teil mit kleinen gelben, netzartigen Runzeln. Im ganzen wird sie gelblicher, trockener, bleibt aber oben noch glänzend. Nach 4—6 Tagen wird sie wieder weicher, oben und unten dicker, schleimiger. Eine 4 Wochen alte Kolonie sieht grau-weiß, schleimig, glänzend aus. Der Agar ist ganz hell. Die Kolonie auf Agar ohne Dextrose sieht nach 24 und 48 Stunden weißer, weniger gelblich aus, ist aber nach 48 Stunden trockener, stark häutig und sitzt auf dem Agar fest auf, beinahe wie verwachsen. Nach 14 Tagen ist sie trocken, weiß.

Agarstich in Heyden-Agar. Nach 3 Tagen bei 28° ist auf der ganzen Oberfläche ein mattgrauer Belag entstanden. Im Stich war die Kolonie bis über die Hälfte der Agarsäule als streifiger, schleierartiger Faden gewachsen. Nach 6 Tagen bildet sich auf der Oberfläche ein trockener, aus feinen Runzeln bestehender Belag. Der streifenartige Wuchs im Stich hatte sich nach unten

verlängert. Nach 14 Tagen war besonders oben eine starke Entwickelung eingetreten. Wolkenartig durchsetzte die Kolonie die ganze Glasbreite in einer Höhe von 0,5 cm. Nach 4 Wochen war das Aussehen dasselbe.

Gelatineplatte. Nach 3 Tagen bemerkt man mit der Lupe feine, weiße Pünktchen. Mikroskopisch stellen sie sich als rundliche, ovale, schiefeckige, hellgelbliche Kolonieen dar. Der Rand ist scharf abgesetzt, das Innere feingekörnt. Nach 6 Tagen sind die Formen mehr rund mit flachen Ein- und Ausbiegungen, die Farbe graugelb. Nach 8 Tagen haben die Kolonieen makroskopisch und mikroskopisch ein gelbes Aussehen, sind rund und wenig gewachsen. Nach 14 Tagen war in einem Falle die Gelatineplatte mit viel Material verflüssigt, eine andere mit weniger Material begann die Verflüssigung erst nach 18 Tagen. Die Gelatine war ziemlich konsistent.

Gelatinestich. Nach 3 Tagen war an der Einstichöffnung eine ovale, kleine, graue Kolonie, im Impfstich wie im Agarstich ein schleierartiger, streifiger Faden bis auf den Boden gewachsen. Am 6. Tage hatte die streifenartige Kolonie im Stich einen feingekörnten Rand gebildet. In den folgenden Tagen und Wochen wurde die Kolonie oben ausgesprochen gelb, die im Innern des Stiches verbreiterte sich allmählich und bildete von oben herab eine trichterartige Röhre. Nach 5 Wochen begann mit zunehmender Zimmertemperatur Verflüssigung einzutreten. Diese erreichte nach 6 Wochen eine Höhe von 1,5 cm.

Kartoffelscheibe. 3 Tage nach der Impfung hatte sich auf der Scheibe eine ziemlich große, gelb-graue, durchscheinende, saftig glänzende Kolonie entwickelt. Nach 8 Tagen war sie trockener geworden und bedeckte hautartig das Nährsubstrat. Die Farbe war eigelb, besonders in den Poren der Kartoffelscheibe. Sie bestand fast nur aus beweglichen Einzelstäbchen. Nach 12 Tagen bildete die Kolonie einen gelben, aus einzelnen niedrigen, feinen Runzeln bestehenden Belag. Nach 16 Tagen war sie dicker, fast homogen, fettglänzend und grau-gelb. Sie bestand fast nur aus Sporen. Das Aussehen hatte sich nach 4 Wochen nicht geändert.

Möhrenscheibe. Das Wachstum ist bei hoher Temperatur besser als bei niedriger. Nach 4 Tagen hatte sich eine helle, wässerige Kolonie gebildet. Sie bestand meist aus Einzelstäben und einzelnen bis 20-langen Fäden, deren Stäbchen 1- bis 3-lang und 1-zellig waren. Die Stäbe zeigten mit Methylenblau v viel weiße, runde und unregelmäßig gestaltete Flecken. Jodjodkalium sch gab eine schwache Glykogenreaktion. Nach 6 Tagen bei hoher Zimmertemperatur war der Belag grau-gelblich, schleimig glänzend geworden. Die Kolonie bestand hauptsächlich aus Sporen und Sporangien. Das Aussehen der Kolonie blieb nach 4 Wochen noch dasselbe.

Entwickelungsgang in Nährlösungen.

Bacillus parvus keimt bei 28° in N.L. I, III und Vα. N.L. I: Nach 2 Tagen ist die Lösung leicht getrübt und hat auf dem Boden einen wolkigen Belag. Es haben sich sehr bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen entwickelt,

die zum Teil leicht gekrümmt sind. Nach 6 Tagen finden sich ganz vereinzelte Sporenanlagen. N.L. III: In der klaren Lösung findet man nach 2 Tagen nicht sehr zahlreiche bewegliche Einzelstäbchen. Sie sind kürzer bis $^1/_2$-lang wie auf Agar und etwas dicker. Das Wachstum bleibt in der folgenden Zeit dasselbe. N.L. Vα: In der leicht getrübten Lösung befinden sich nach 2 Tagen 2- bis 3-lange Einzel- und Doppelstäbchen in Bewegung. Auch beobachtet man 3—4-stäbige Fäden mit 2- bis 3-langen Stäben. Die Entwickelung ändert sich in den folgenden Tagen und Wochen nicht.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen nach 4wöchentlicher Entwickelung bei 28°. N.L. 0: Leicht getrübt, flockiger Niederschlag. Hauptsächlich Einzelstäbchen, $^1/_2$- bis 1-lang, 1-zellig, kräftig, dann 1—2-zellige Doppelstäbchen. Ausnahmsweise ein 3- oder 4-stäbiger Faden mit in der Regel ungleich langen 1- bis 2-langen Stäben. Keine Sporen. Sauere Reaktion. — I: Leicht getrübt, wolkiger Bodenbelag. Normale, langsam bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen, weniger Sporangien und freie Sporen. Säurebildung. — II: Lösung trübe mit Anflug von Häutchen. Dicker, flockiger, bräunlicher Niederschlag. Einzel- und Doppelstäbchen, 1-lang, 1—4-zellig; 4- bis selten 10-stäbige Fäden. Geruch nach Schweizerkäse. Sauere Reaktion. — III: Lösung klar, weißer, wolkiger Niederschlag. Normale Einzel- und Doppelstäbchen. Stark alkalisch. Starker Schweizerkäsegeruch. — IV: Leicht getrübt, ziemlich starke Kahmhaut, weißer Rand, häutiger Niederschlag. Neben meist Einzelstäbchen hauptsächlich freie Sporen. Stark alkalisch. — V: Getrübt, mit weißem Rand, dünnem Häutchen, geringem, flockigem Niederschlag. Kräftige 1-lange Einzelstäbchen, vielfach schwache Doppelstäbchen und bis 6-stäbige Fäden mit 2-langen, 2—4-zelligen Stäben. Schwach alkalisch. — Vα: Trübe mit flockigem Niederschlag. Einzelstäbchen und bis 6-stäbige Fäden mit meist 2-langen, 2—4-zelligen Stäben. Schwach alkalisch. — Vβ: Trübe mit wolkigem Niederschlag. Normale Einzel- und Doppelstäbchen. Ausnahmsweise Involutionsformen (Fig. VIIe 1). Stärker alkalisch wie Vα. — Vδ: Klar mit dicker, gelblicher, zäher Kahmhaut ohne jeden Niederschlag. In der Kahmhaut neben normalen Einzelstäben vielfach bis 2-lange. Freie Sporen. Involutionsformen (Fig. VIIe 2, 3). Alkalisch. — VI und VII: Klar mit geringem, wolkigen Niederschlag. — VIII: Klar mit hellweißem, kleinflockigem, fast körnigem Niederschlag. Etwas angeschwollene Einzel- und Doppelstäbe. Alkalisch. — X: Klar mit leicht sich auflösendem Bodenbelag. Einzelstäbchen. Wenig alkalisch. — Vγ, IX, XI: Kein Wachstum.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	3	4	1—2	3	2	3	2—3	0	2	0—1	1	2	0	1	0

Alkalibildung in Nährlösung III, IV, V, Vα, Vβ, Vδ, VIII und X. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. NL. IV 10 ccm = 0,6 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Entwickelung bei 28° in IV: 1) Nach 8 Tagen 10 ccm = 6,15 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) Nach 14 Tagen 10 ccm = 5,49 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 3) Nach 4 Wochen 10 ccm = 3,52 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. — Alkali in N.L. III 10 ccm = 0,0 cmm $^1/_{10}$ N.Schw. 1) Nach 8 Tagen: 10 ccm = 3,02 ccm N.Schw. 2) nach 14 Tagen: 10 ccm = 4,21 ccm N.Schw. 3) Nach 4 Wochen 10 ccm = 3,41 ccm N.Schw. — Säurebildung im Reagenzglase: in N.L. 0, I und II. Im Kölbchen entwickelt B. parvus Alkali.

Reservestoffe: Partiell Glykogen. Gasbildung: Fehlt. Diastasebildung: In N.L. III. In N.L. I und IV nicht vorhanden. Verflüssigung der Gelatine langsam. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 14′. Gramdauer in 80-proz. Alkohol: 48—52 Stunden.

Die Beziehungen des Bacillus parvus zu Bacillus pumilis.

B. parvus steht dem B. pumilis in Form und Größe der Sporen und der Oidien, in der Art der Entwickelung, einschließlich der Beweglichkeit, sehr nahe. Die wichtigsten Unterschiede zwischen

den beiden Species sind folgende: 1) Die Sporen des B. parv. sind kürzer und schmaler, 1,1 : 0,4 μ, als diejenigen des B. pum. 1,25 μ : 0,55 μ, die ovalen Sporen sind bei ihm seltener. 2) Vor der Keimung schwellen die Sporen des B. parv. ziemlich stark an, die des B. pum. nicht. 3) B. parv. keimt zu etwa $^1/_4$ äquatorial, unter einseitigem Aufreißen der Membran, B. pum. nur polar. 4) Die Sporangienbildung erfolgt bei B. parv. schneller, nach 36—40 Stunden, als bei B. pum. nach ca. 90 Stunden. 5) B. parv. ist fakultativ anaërob und wächst gut im Gelatine- und Agarstich; B. pum. streng aërob. 6) B. parv. bildet abweichend von B. pum. in den Nährlösungen 0—II, namentlich in letzterer ziemlich stark Säure und in N.L. III und IV stark Alkali. 7) B. parv. zeigt gegenüber B. pum. gutes Wachstum in N.L. V, Vβ und VIII, überhaupt, wenn auch schwaches Wachstum in VI und VII, stärkeres Wachstum in III und IV. In Vδ wird von B. parv. eine dicke, zähe, gelbliche Kahmhaut gebildet. 8) B. parv. bildet in N.L. III Diastase, B. pum. nicht.

Die wichtigsten Merkmale der Species Bacillus parvus A. M. et Neide.

Spore: Sporenform normal: cylindrisch stäbchenförmig mit flachen Polen (Fig. VIIa, 1—9), seltener ovalen (Fig. VIIa, 10, 11), Sporengröße normal 1,1—1,2 μ lang, 0,35—0,4 μ breit. Die Membran ist ungefärbt zu erkennen. Die Sporen schwellen vor der Keimung ziemlich stark an (Fig. VIIa, 12, 13). Exine und Intine sind nicht zu unterscheiden. Die Keimung erfolgt polar zu etwa $^1/_4$ äquatorial. Die Keimstäbchen werden 2- bis 1-lang und 0,6 μ im Durchschnitt breit. Sie beginnen bald nach der Keimung lebhaft zu schwärmen (Fig. VIIb, 1—6). Begeißelung peritrich (Fig. VIIc, 8). Auf Dextrose-Agar. Nach 24 Stunden sind meist 1-lange 0,6—0,7 μ breite Einzel- und Doppelstäbchen gebildet, nur wenige 2- bis 3-lange 4-zellige Fäden. Nach 36—40 Stunden beginnt die Sporangienbildung. Die Sporangien sind im Durchschnitt 1,9 μ lang, 0,4—0,5 μ breit, die Sporen vorherrschend endständig, dann mittelständig; in letzterem Falle vielfach oval gestaltet. Nach 50 Stunden vorwiegend freie Sporen neben Sporangien und degenerierten Fäden. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen II, IV, Vα = 3—4, VIII = 2, Vγ = 0 ist charakteristisch. Agarstrichkultur: Nach 20 Stunden glasig, durchsichtig, feingekörnt. Nach 40 Stunden weißlich-gelb, homogen, häutig, mattglänzend. Nach 3 Tagen im unteren Teil netzartige, gelbe Runzeln. Später im ganzen weicher, schleimiger, gelblich. Kartoffelscheibe: Nach 3 Tagen große, gelbgraue, saftig glänzende Kolonie. Nach 8 Tagen trocken, runzlig, eigelb. Nach 4 Wochen dick, graugelb, homogen, fettglänzend. Möhrenscheibe: Wachstum bei hoher Temperatur besser als bei niedriger. Die anfänglich helle wässerige Kolonie wird später graugelblich, schleimig glänzend. Alkalibildung: in N.L. IV, V, Vα, β, δ, VIII und X. Säurebildung in 0—II im Reagensröhrchen. Reservestoffe: Schwache Glykogenbildung auf Dextroseagar nach 24 Stunden und auf der Möhrenscheibe. Gasbildung: fehlt. Diastasebildung in N.L.

III. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°:14'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol : 48 bis 52 Stunden.

Bacillus sphaericus A. M. et Neide.

Wahrscheinlich synonym: Plectridium palludosum (Fischer, Vorlesungen über Bakt. 1897. p. 20). — B. gracilis (Zimmermann, Die Bakterien unserer Nutz- u. Trinkwässer, insbesondere des Wassers der Chemnitzer Wasserleitung). B. butyricus (Bottein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 421). — Möglicherweise synonym: B. pseudotetani (E. Tavel, Ueber den Pseudotetanusbacillus des Darmes. Centralbl. f. Bakt. 1898. XXIII. Bd. p. 538). — B. pseudotetanicus (Kruse) Mig. (Flügge, Mikroorganismen. 1896. II. Bd. p. 267). — B. albuminis (Schröter, Cryptogamenflora von Schlesien 1886). — B. putrificus coli (Flügge, Mikroorganismen 1891). — B. thalassophilus (Russel, Untersuchungen über im Golf von Neapel lebende Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 190). — Gottheil setzt B. thalassophilus synonym mit B. asterosporus.

B. sphaericus ist in der Natur weit verbreitet. Die meiner Arbeit anfänglich zu Grunde liegende Kolonie war von D. Ellis aus dem Schlamm des Teiches im hiesigen botanischen Institut bei der Untersuchung auf Sarcinen isoliert worden. Ich fand ihn bald darauf in dem modernden Holz einer Cypresse, wiederholt im modernden Holz von Eichen aus hiesiger Gegend und in der Neumark, später häufig bei der Untersuchung des Waldbodens auf sporenbildende Bakterien, namentlich in feuchtem Boden. Da er in sandigem, trockenem Waldboden von mir nicht gefunden wurde, scheint er somit Feuchtigkeit zu bevorzugen. Für Meerschweinchen ist er nicht pathogen. Allem Anschein nach ist er mit der Mehrzahl der in der Litteratur behandelten Trommelschlägerbacillen identisch oder ihnen sehr nahestehend. Wenn ich unter den wahrscheinlich synonymen Species zwei als anaërobe Bacillen bezeichnete angeführt habe, so halte ich mich dazu durch die Tatsache berechtigt, daß B. sphaer. auch auf der Agarplatte und im Agarröhrchen anaërob wächst. Platte und Röhrchen waren hierzu nach Vorschrift von Arthur Meyers Praktikum behandelt. Aërobes und anaërobes Wachstum zeigte keine merkbaren Unterschiede im Aussehen der Kultur in dem Grade der Beweglichkeit, noch in der Bildung der Reservestoffe. Aus diesem Grunde halte ich den anaëroben „geradezu allverbreiteten“ B. butyricus Botkin für wahrscheinlich synonym mit dem vorliegenden, ebenso Plectridium palludosum Fischer, der vom Autor gleichfalls als anaërob bezeichnet wird. Möglicherweise ist auch der „unvollständig beschriebene“, aber nach Bimstock sehr verbreitete, Trommelschlägerform besitzende B. putrificus coli mit B. sphaer. identisch. Wenn er im Gegensatz zu unserer Species als oft fadenbildend bezeichnet ist, so schließt das die Identität nicht aus. B. sphaer. bildet auf Dextroseagar und in gewissen Nährlösungen keine Fäden, dagegen sehr lange in Asparaginlösung mit Rohrzucker oder mit Dextrose (N.L. Vα und X).

Die Sporen. Die Sporen von B. sphaer. sind sphäroid, mit verschieden stark ausgeprägten und verschieden großen Abflachungen. Völlig kreisrund erscheinen die Sporen nur in unge-

färbtem Zustande, in welchem die Konturen der äußeren Membran weniger genau hervortreten (Fig. VIIIa, 1—6.

Bei guter Beleuchtung lassen sich an lebendem Material Ex- und Intine auch ohne Reagens unterscheiden. Beide, besonders die erste, sind relativ dick. Am deutlichsten tritt die Unterscheidung beider Membranen bei Färbnng der Sporen mit Safranin hervor.

Flügge (1896) sagt von B. butyricus Botk., daß die Sporen „von einer starken Plasmahülle umgeben bleibt". Die in gleicher Weise starke, meist scharf begrenzte Sporenmembran des B. sphaer. schien auch mir anfangs auf Bestandteile des Protoplasten oder auch auf Verschleimung hinzudeuten. Zur Feststellung, ob die eigentümlich starke Struktur der Sporenmembran unserer Species durch Anhaften von Protoplasmaresten oder durch eine Schleimhülle hervorgerufen werde, unterzog ich die Sporen einer Behandlung mit Eau de Javelle und mit 5-proz. Salzsäure. Das erste Reagens löst die Protoplasmabestandteile auf, das zweite den Schleim.

1) Nach 10' langer Behandlung des Sporenmaterials mit Eau de Javelle war die starke Lichtbrechung des Protoplasten innerhalb der Sporen verschwunden. Der Protoplast erschien gelöst und bei tiefer Einstellung des Objektivs weiß, bei hoher dunkler. Etwaige Protoplasmareste an der Exine mußten demzufolge gleichfalls aufgelöst sein. Die Membran war aber noch stark, nur weniger lichtbrechend. Die nachfolgende Färbung mit Methylenblau 1 + 10 zeigte die Membran breit, und bisweilen mit kleinen Ecken oder Spitzchen versehen. Die Dicke der Membran rührt also nicht von Protoplasmaresten her. 2) Nach längerem Aufkochen mit 5-proz. Salzsäure blieb die Sporenmembran stets unverändert. Demnach ist die Dicke der Sporenmembran eine dem B. sphaericus zukommende Eigentümlichkeit. Ob das rauhe und unregelmäßige Aussehen noch auf einer besonderen Beschaffenheit der Membran beruht, z. B. Behaftung mit kleinen Wärzchen, worauf die bisweilen hervortretende Erscheinung von Eckchen und Spitzchen hinzudeuten scheint, ließ sich bei der Kleinheit des Objekts mit den verfügbaren Untersuchungsmitteln nicht feststellen.

Die Form der Sporen erscheint bei angetrocknetem Material nicht selten mehr oval, als bei in Wasser befindlichem, frischem Material. Die Sporen haben im Durchschnitt einen Durchmesser von 1,2 μ; die größten von 1,3 bis 1,5 μ, die kleinsten von 0,9 bis 1,0 μ. Als Ausnahme wurde eine Spore von 1,65 μ Durchmesser gemessen.

Die Keimung. Die Sporen schwellen vor der Keimung bis auf 1,7 und 1,9 μ Durchmesser an. Vielfach ist eine Längsstreckung wahrzunehmen (Fig. VIIIa, 9). Die Keimung erfolgt auf Dextroseagar nach 3—4 Stunden. Die Sporen strecken sich in die Länge. Die Sporenmembran zerreißt entweder einseitig rein äquatorial (Fig. VIIIb, 1—4) oder mehr nach einem Pole zu (Fig. VIIIb, 5, 6) oder die Sporenmembran springt äquatorial rings herum auf und haftet dann für kurze Zeit beiden Polen an (Fig. VIIIb, 7, 8). Erfolgt die Keimung ausnahmsweise schon, während die Sporangienmembran noch die Sporen umgibt, so sind die Sporenmembranen mit der

ganzen Sporangienmembran oder mit Teilen derselben behaftet (Fig. VIII b, 9). Das Abwerfen der Sporenmembran erfolgt schnell.

Die Keimstäbchen (1-lang = 3,8 μ) werden bis 2-lang und 0,9—1,3 μ breit. Die kürzeste Septierung fand sich bei einer Gesamtlänge von 4,4 μ. Die Membran ist ungefärbt gut zu erkennen. Der Protoplast erscheint homogen bis auf einzelne an den Polen gelegene lichtbrechende Stellen.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar. Die 6-stündige Kultur zeigte 1- bis 3-lange Einzelstäbchen und Doppelstäbchen, deren Teilstäbe $^1/_2$- bis 2-lang waren. Nach 10 Stunden haben die Einzelstäbchen sehr verschiedene Größe. Außer den normalen 1- bis 2-langen Einzelstäbchen werden 3- bis 4-lange gefunden, im Ausnahmefalle 6- bis 10-lange 1,0—1,2 μ breite Fäden, welche mit Chlorzinkjod keine Septierungen hervortreten lassen. Eigentümlich ist an dem Zerfall dieser Fäden, daß die Septierung nicht gleichzeitig eintritt, sondern die einzelnen Stäbchen successive von einem Ende an abgeschnürt werden. Die Fäden sind jedoch nur als Ausnahme zu betrachten und nicht ein stehendes Zwischenglied der Entwickelung (Fig. VIII c, 1—5).

Nach 14 Stunden treten im Protoplasten, im ungefärbten Zustande, stark lichtbrechende Stellen namentlich an den Polen auf, Zellsaftvakuolen. Nach Analogie mit anderen, ähnliche Erscheinungen zeigenden Species würde man Glykogen als Ursache mancher der lichtbrechenden Stellen vermuten. Mit Sicherheit gelang jedoch die Reaktion nicht. Hingegen lassen sich zahlreiche Volutanskugeln auf Glykogen leicht nachweisen (Fig. VIII d, 1—4). Mit 16—18 Stunden beginnt die Sporangienbildung fast ausschließlich in Einzelstäbchen. Hierzu werden die Stäbchen an einem Ende zunächst stärker, dann keulenförmig. Die Volutanskugeln liegen in diesem Entwickelungsstadium vielfach in der Nähe der ersten Sporenanlage, entweder zwischen dieser und dem anstoßenden Pole der Sporangienmembran, oder meist dicht an der Sporenanlage nach der freien Seite des Stäbchens zu. Mit zunehmender Reife der Spore bauchen sich die Sporangien meist gerade von dieser Stelle an aus, bis sie schließlich abgerundete Köpfe bilden (Fig. VIII e, 1—6). Eine schiffchenförmige Form der Sporangien (Fig. VIII e, 7), welche B. fusiformis in der Regel bildet, wurde von mir bei B. sphaer. nur ganz ausnahmsweise beobachtet. Auch fanden sich zweimal die Anlagen zu einer zweiten Spore in demselben Sporangium, einmal in N.L. IV, einmal im Kondenswasser. Chlorzinkjod gab keine Reaktion auf eine Zwischenmembran, indes waren die Sporen noch nicht soweit zur Reife gediehen, daß sich nicht nachträglich noch eine Zwischenmembran hätte bilden können. Während der Sporangienbildung besitzen die Stäbchen eine Länge von 1,0—3,8 μ, eine Breite von 0,9—1,3 μ, gleich unterhalb des abgebauchten Köpfchens gemessen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der thermophilen Bakterien.

Von Dr. **G. Catterina,**

Privatdozent für Bakteriologie an der kgl. Universität in Padua.

Mit 1 Tafel.

Bereits im Jahre 1879 lenkte Miquel[1]) die Aufmerksamkeit der Bakteriologen auf eine neue Gruppe von Spaltpilzen, deren besondere biologische Eigentümlichkeit sich darin äußerte, daß sie bei höherer Temperatur zwischen 60—70° C wuchsen, weswegen dieselben auch thermophile Bakterien genannt wurden. Seitdem beschäftigten sich noch andere ex professo mit solchen Schizomyceten, welche ein sonderbares, von dem aller übrigen Mikroorganismen wesentlich abweichendes Verhalten den Temperaturen gegenüber aufweisen. So beschrieb Van Tieghem[2]) ein Jahr darauf andere Mikroorganismen aus derselben Gruppe, und im Jahre 1877 isolierte Globig[3]) gewisse Bakterien aus dem Boden, welche bei Temperaturen zwischen 50 und 70° C üppig gediehen. Nicht lange danach erschienen über den Gegenstand die Untersuchungen von Mac Fadyen und Blaxal[4]) sowie jene von Cambier[5]) und 1895 isolierte Lydia Rabinowitsch[6]) anläßlich ihrer diesbezüglichen Experimente mit Teilchen von Bodenproben, Wasser und Exkrementen nicht weniger als 8 neue Arten solcher Mikroorganismen. Später wurden andere Arten thermophiler Bakterien noch von Oprescu[7]) im Boden, im Wasser und in Nahrungsstoffen entdeckt. Certes und Garrigou[8]), Karliński[9]) und in den letzten Jahren auch P. Tsiklinksy[10]) isolierten aus Thermalquellen einzelne Spaltpilze, welche höheren Temperaturen widerstehen.

Als ich das schleimige Wasser eines Grabens gelegentlich untersuchte, erhielt ich durch Plattenkulturen mit Gelose bei 60° C ein Bakterid, welches ich in der vorliegenden und von mir gewissenhaft zu Rate gezogenen Literatur nicht beschrieben fand. Den in Rede stehenden Mikroorganismus erhielt ich auf folgende Weise: Von dem durch 5 Minuten dem Siedepunkte ausgesetzt gewesenen Wasser wurde 1 ccm mit 100 ccm destillierten und sterilisierten Wassers verdünnt, welches das Kulturobjekt bildete für

---

1) Miquel, Bulletin de la Statistique municipale de la ville de Paris; dec. 1879. Annuaire de l'Observatoire de Montsouris, pour 1881. p. 464. — Annales de Micrographie. T. I. 1888. p. 3.

2) Van Tieghem, Bulletin de la Société botanique de France. janv. 1881. p. 35.

3) Globig, Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1887. p. 294.

4) Mac Fadyen et Blaxal, Journal of Patho- and Bacteriology. Bd. III. 1894.

5) Cambier, Revue de physique et de chimie. 1899. p. 223.

6) Rabinowitsch, L., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895. p. 161.

7) Oprescu, Arch. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1898. p. 1641.

8) Certes et Garrigou, Compt. rend. de l'Académ. des Sciences. T. CIII. 1886.

9) Karliński, Hyg. Rundschau. 1898. No. 15.

10) Tsiklinksy, Annales de l'Inst. Pasteur. Bd. XIII. 1899. p. 788

die Geloseplatten in Petri-Schalen. Die Platten befanden sich in Krystallisierschalen, auf deren Grunde sich eine mit sterilisiertem Wasser reichlich durchtränkte Watteschicht befand, und das Ganze wurde in einen Thermostaten auf 60° C gegeben. Nach ungefähr 24 Stunden hatten sich auf 2 Platten 3 Kolonieen gezeigt. Zwei der Kolonieen auf einer Platte waren in ihren Merkmalen einander gleich, beide klein, von weißlicher Farbe, rundlich und mit scharf abgesetzten Rändern etwas über das Substrat erhoben. In der Folge konnte ich nachweisen, daß hier die durch Bacillus thermophilus IV von Lydia Rabinowitsch gebildeten Kolonieen vorlagen, da die biologischen und morphologischen Charaktere vollkommen mit den beschriebenen übereinstimmten.

Die dritte Kolonie war von wachsweißer Farbe und erhob sich mit polyedrischen Umrissen über die Oberfläche des Substrates; von ihrer Peripherie strahlten zarte Filamente aus. Der mikroskopische Befund ergab ziemlich gedrungene Stäbchen, welche an einem Ende spannnadelkopfähnlich aufgetrieben waren; mit Ziehls Flüssigkeit färben sich die Stäbchen rasch und gleichförmig, isoliert messen sie ungefähr 2 μ an Länge. Im hängenden Tropfen zeigen sie keinerlei Bewegung. Sie speichern leicht auch andere Anilinfarben auf, werden aber von Gram nicht gefärbt. Die Sporen sind endständig und gelangen in dem aufgetriebenen Teile des Mikroorganismus zur Entwickelung. In Brühe bei 60° C kultiviert, bewirken sie eine rasche Trübung und ein Sauerwerden derselben, während sich an der Oberfläche ein sehr zartes, aber auch sehr zerbrechliches, weißliches Häutchen zeigt. Milch wird durch den Mikroorganismus zum Gerinnen gebracht.

Bei Stichkulturen in Gelose, bei 60° C, zeigen sich nach 24 Stunden ungemein zarte Fädchen, welche, büschelweise vereinigt, von der Zentralkolonie nach den Wänden des Glasgefäßes ausstrahlen und dadurch in gewissen Abständen gleichsam äußerst zarte konkave Scheibchen unter und übereinander bilden. Die Scheiben sind nach der Oberseite zu konkav, zeigen sich aber nur in den oberen Schichten des Substrates gut entwickelt, während sie nach unten zu immer kleiner werden, bis in den untersten Lagen nur sehr kurze und gerade Filamente ausstrahlen. In den geneigten Gelosekulturen ist die bei 60° C nach ungefähr 24 Stunden auftretende weißliche Kolonie von zahlreichen kleinen, mehr oder weniger regelmäßigen, von einander getrennten Büschelchen umgeben.

In Kartoffelkulturen von 60° C erscheint die Kolonie weinsatzrot, ist nahezu kreisrund, etwas in der Mitte hervorragend und von feuchtem Aussehen.

Eine Temperatur von 70° C ist zur Entwickelung dieses Bakteriums ebenfalls günstig, so daß man sowohl in der Brühe als auch auf Kartoffeln eine noch hinreichend üppige Vegetation desselben erhält.

Bei höheren Temperaturen nimmt jedoch die Vegetation sehr stark ab, so daß bei 72° C die Brühe noch klar bleibt und sich

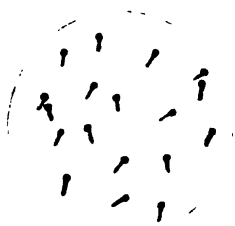


Fig. 1.



Fig. 2.

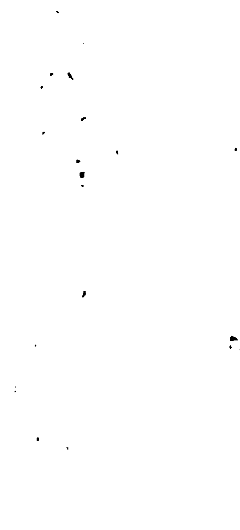


Fig. 4.

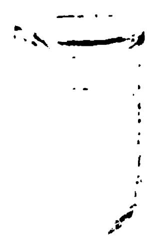


Fig. 5.



Fig. 3.



Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

erst nach 3, selbst nach 4 Tagen darin winzige Flöckchen am Grunde des Glases abscheiden.

Bei 37° C hat man selbst nach 15 Tagen keine Vegetation, weder in der Brühe, noch auf Gelose, noch auch auf Kartoffeln.

Bei 40° C ist zwar die Vegetation sehr verzögert, doch treten nach 3 Tagen in der Brühe einzelne wenige, sehr kleine Flöckchen auf, wie bei der Temperatur von 72° C. Ebenso spärlich und gar nicht charakteristisch ist die Vegetation bei den durch Stich und durch Strich auf Geloseplatten gemachten Kulturen, sowie auf Kartoffeln, wenn die Temperatur 40° C betrug. Erst bei 50° C kann man sagen, daß die Vegetation hinreichend lebhaft und charakteristisch sei, sie erreicht ihr Optimum zwischen 60 und 70° C.

Der Mikroorganismus bewirkte, weder in das Blut direkt, noch in Körperhöhlen von Kaninchen und Meerschweinchen gebracht, irgend welche krankhafte Erscheinung. Ebenso negativ waren die Ergebnisse von Infektionen mit den löslichen Produkten dieses Mikroorganismus.

Auf Grund der in Kürze vorgebrachten Merkmale benenne ich den neuen Mikroorganismus Bacillus thermophilus radiatus.

Padua, Dezember 1903.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Aus jungen Kulturen auf Geloseplatten. (Okul. IV, Objekt. 1/2 homog. Imm. Reichert.)
Fig. 2. Aus 2 Tage alten Gelosekulturen. (Vergr. wie oben.)
Fig. 3. 3 Tage alte Kolonieen auf Geloseplatten.
Fig. 4. 3 Tage alte Gelosekulturen.
Fig. 5. 2 Tage alte Stichkultur in Gelose.
Fig. 6. 2 Tage alte Kartoffelkultur.

Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen.

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur, unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen.] [1])

Von Dr. **Berthold Heinze** in Halle a. S.

(Schluß.)

Weiterhin überwintern bekanntlich nach neueren Untersuchungen von Müller-Thurgau [2]) die Weinhefen im Erdboden und werden im Spätsommer und im Herbste während der Traubenreife

1) Anmerkung: Diese Beobachtungen und Untersuchungen sind vom Verf. z. T. schon während seiner Tätigkeit an der landw. Versuchsstation in Colmar i. E. gemacht worden, z. T. jedoch erst während seiner Tätigkeit an der hiesigen landw. Versuchsstation.

2) Müller-Thurgau, Neue Forschungen auf dem Gebiete der Weinbereitung und deren Bedeutung für die Praxis. (Bericht über die Verhandl. des IX. deutschen Weinbaukongresses in Trier. Mainz 1889. p. 32.)

durch allerlei Insekten, insbesondere durch Wespen, auf die Trauben verschleppt, aber wohl auch durch den Wind und die Luftfeuchtigkeit (mit dem Staube) verbreitet. Im allgemeinen dürften sich nun die in den Erdboden gelangenden Weinhefen in der Hauptsache dank dem von ihnen angesammelten Glykogenvorrate am Leben erhalten. Im übrigen unterliegt es aber wohl kaum einem Zweifel, daß die Hefen auch im Erdboden geeignete und gute Kohlenhydratnahrung, wenn auch meist nur in recht kleinen Mengen vorfinden und ausnützen können. Allerdings schreibt Wortmann[1]) in einem Aufsatze: „Ueber die Bedeutung der alkoholischen Gärung" bei Erörterung derselben als Ersatz für die normale Atmung, als welche sie bisher wohl meistens angesehen worden wäre, daß ihr diese Bedeutung unter anderem hauptsächlich schon aus dem Grunde nicht zukommen könnte, weil unter normalen Verhältnissen der Existenz, sowohl im Boden als auch auf der Oberfläche der süßen Früchte, einerseits die Hefe immer genügenden Sauerstoff zur normalen Atmung fände, und andererseits eine Atmung wegen des gänzlichen Mangels an Zucker in der Umgebung direkt unmöglich wäre, so lange sie sich im Erdboden befindet. Wortmann ist also der Ansicht, daß im Erdboden überhaupt kein Zucker gebildet wird. Diese Ansicht dürfte nun aber wohl zweifellos dahin zu modifizieren sein, daß im Erdboden, wenn auch im allgemeinen meist nur intermediär ganz genau ebenso gewisse Zuckermengen gebildet werden, wie irgendwo anders, falls nur die Bedingungen zur Zuckerbildung vorhanden sind. Freilich werden die im Erdboden aus gewissen Stoffen gebildeten Zuckermengen im allgemeinen immer recht geringe sein, so daß man sie für gewöhnlich nur in den seltensten Fällen wird chemisch nachweisen können, zumal sie ja für die meist sehr zahlreiche und buntgemischte Organismenflora des Erdbodens einen äußerst günstigen Nährstoff abgeben, welcher von den mannigfaltigen im Boden lebenden Organismen (also auch von den etwa vorhandenen Hefen) unverzüglich weiterverarbeitet wird. Obendrein konnte ja Verf. den experimentellen Nachweis erbringen, daß Pektinstoffe, welche mit Stoppeln und allerlei sonstigen Ernterückständen in nicht unbeträchtlichen Mengen in den Ackerboden zu gelangen pflegen, soweit die bisherigen Beobachtungen und Untersuchungen reichen, von Schimmelpilzen wie auch von Azotobacter-Organismen intermediär in gärungsfähigen Zucker (aller Wahrscheinlichkeit nach in Dextrose) und weiterhin natürlich auch in Glykogen übergeführt werden können. In ähnlicher Weise werden sich sicherlich bei weiteren diesbezüglichen Untersuchungen auch noch manche andere mit den verschiedensten Ernterückständen in den Boden gelangenden Kohlenhydrate oder kohlenhydratartigen Körper verhalten. Schließlich wird beispielsweise auch im Erdboden das Glykogen der Azotobakterorganismen unter gewissen Bedingungen teilweise wohl immer wieder rückwärts in Zucker übergeführt werden,

1) Wortmann, Ueber die Bedeutung der alkoholischen Gärung. (Weinlaube. Bd. XXXV. 1903. p. 3—6, 14—16. Ref. Annales Mycologici. Bd. II. 1904. p. 138.)

welcher neben mancherlei anderen Stoffen vorwiegend als Glykogenbildner inbetracht kommt (vergl. hierzu auch die diesbezüglichen späteren Bemerkungen).

Nachdem alsdann weiterhin die verschiedensten Zucker, wie genugsam bekannt ist, durch geeignete Behandlung auch in humusartige Körper umgewandelt werden können, so ist es schließlich ganz klar, daß auch umgekehrt, unter freilich noch nicht näher gekannten Bedingungen, die Möglichkeit der Umformung von Humusstoffen durch Organismen in zuckerartige Substanzen bezw. in Zucker selbst und weiterhin in Glykogen nicht von der Hand zu weisen ist, zumal bei den mannigfachen, allerdings äußerst verwickelten Stoffumwandlungsprozessen, wie sie sich im Erdboden abspielen. Freilich wissen wir zur Zeit erst recht wenig, gerade über die Umwandlung der Humusstoffe im Erdreich durch Organismenwirkungen. Soviel steht jedoch auch durch neuere Beobachtungen des Verf. schon fest, daß Humusstoffe durch Bodenorganismen, insbesondere auch durch die sogenannten Azotobacter-Organismen (welche übrigens nach unseren bisherigen Kenntnissen und auch nach den neueren diesbezüglichen Untersuchungen des Verf. zweifellos mehr oder weniger farblose Parallelformen zu gewissen Cyanophyceen vorstellen dürften, wie wir sie nach den obigen Erörterungen in ähnlicher Weise in den sogenannten Prototheca-Arten zu gewissen Chlorophyceen kennen), bis zu einem gewissen Grade ausgenutzt und verarbeitet werden können. Wie an anderer Stelle schon kurz ausgeführt wurde, sind alsdann gerade auch die Azotobacter-Organismen neben Granulobakter-Arten bei der ersten Humusbildung bezw. Erdbildung im Hochgebirge beteiligt, was nunmehr auch gar nicht zu verwundern ist, nachdem wir deren Stickstoffsammlungsvermögen, weiterhin ihr Vermögen, Säure etc. zu bilden, kennen gelernt haben: In Gemeinschaft mit den Flechten[1]), welche in erster Linie ebenfalls als Säurebildner zu bewerten sind, bewohnen diese Organismen noch die Felsen der Hochgebirge, wo bekanntlich keine andere Vegetation mehr gedeiht und tragen so wesentlich zur Verwitterung des Gesteins, und damit zur ersten Erdbildung bei. Ob und in welchem Umfange übrigens bei diesen im Hochgebirge sich abspielenden Vorgängen nach früheren Beobachtungen und Mitteilungen von A. Müntz (cf. hierzu unter dessen Angaben: „Sur la décomposition des roches et la formation de la terre arable“. Comptes rendus 1890. CXI. p. 1370 u. a. auch diejenigen über das mürbe, in Zersetzung begriffene Gestein des Faulhorns) auch die bekannten Winogradskyschen nitrifizierenden Organismen mit-

1) Anmerkung. Ob übrigens die Flechten möglicherweise selbst imstande sind, den freien, ungebundenen Stickstoff der Luft auszunützen, und damit im Boden ebenfalls N-bereichernd zu wirken, kann natürlich erst durch besondere eingehende Versuche, welche in dieser Hinsicht noch nicht vorliegen, entschieden werden. Möglicherweise haben wir jedoch gerade in den sogenannten Gonidienformen der verschiedensten Flechten diejenigen morphologischen Elemente vor uns, welche als N-assimilierende Gebilde in Betracht kommen, bezw. event. als Träger der N-Assimilationsvorgänge aufgefaßt werden können.

wirken, bedarf wohl erst noch der Nachprüfung, zumal damals zu den betreffenden Untersuchungen von Müntz keine Reinkulturen verwandt worden sind, bezw. verwandt werden konnten, und dieser Forscher lediglich kleine Felsstückchen zum Impfen von sterilisierten Nährflüssigkeiten verwandte und auf Grund der bekannten, aber nach den obigen Erörterungen keineswegs einwandsfreien Reaktionen „Nitrifikationserscheinungen“ beobachtete. Im übrigen können in ähnlicher Weise, wie die Flechten, auch die Azotobakter-Organismen mehr oder weniger vollständig austrocknen, ohne ihre Lebensfähigkeit einzubüßen. So entwickelten sich z. B. die Organismen vollständig ausgetrockneter Kalkgipsblockkulturen von Azotobacter (auf schräg erstarrter Fläche ohne besondere Nährsalze, und mit nur wenig sterilisiertem Wasser konnten bei Verwendung geeigneten Impfmateriales ziemlich üppige Vegetationen beobachtet werden), auf geeignete frische Nährböden gebracht, trotz eines Alters von 6—8 Monaten auch weiterhin in einer ungeahnten Ueppigkeit.

Was nun die Frage des Abbaues des Glykogens in der Organismenzelle anbelangt, so müssen wir neben einer enzymatischen Spaltung möglicherweise auch eine direkte Säurewirkung in Betracht ziehen: Da durch besondere Versuche des Verf. festgestellt wurde, daß das Glykogen auch schon durch Erwärmen mit verdünnten Säuren, selbst durch schwache organische Säuren, wie z. B. durch Essigsäure, in reduzierende Substanzen (Zucker) übergeführt wird, so ist es nicht ausgeschlossen, daß bei niedrigeren Temperaturen und längerer Kulturzeit beispielsweise in gärenden Mosten schon die vorhandenen bezw. neugebildeten Fruchtsäuren beim Abbau dieses Kohlenhydrates beteiligt sind, so daß man demnach hierbei eine kombinierte enzymatische und Säurewirkung anzunehmen hätte. In ähnlicher Weise wird man wahrscheinlich auch bei Azotobakterkulturen bezüglich des Glykogenabbaues neben einer enzymatischen Wirkung mit einer direkten Wirkung der von diesen Organismen gebildeten Säuren zu rechnen haben. Etwas näheren Aufschluß über die direkte Säurewirkung werden in dieser Hinsicht sicherlich besondere Versuche mit ungeimpftem Glykogen- und Säurelösungen bringen (von verschiedener Konzentration und bei verschiedenen Temperaturen), bei denen man in geeigneter Weise dafür Sorge trägt, daß die getrennt sterilisierten Lösungen erst nach genügender Sterilisation unter Ausschluß jedweder Organismeninfektion gemischt werden. (Die Sterilisation der beiden in zugeschmolzenen dünnwandigen Röhrchen oder Glasgefäßen befindlichen Lösungen kann vielleicht ganz bequem in einem dritten widerstandsfähigen Kulturgefäße vorgenommen und nach genügender Sterilisation in diesem die mit Lösungen gefüllten Röhrchen zerbrochen werden). Zur weiteren Kenntnis des Glykogenabbaues, insbesondere durch Schimmelpilze, werden auch sogenannte „Schüttelkulturen“ gute Dienste leisten, indem dadurch im allgemeinen eine Fruktifikation (Sporenbildung) verhindert wird zumal bei minimalem Stickstoffgehalte, da das Pilzmycel in solchen Fällen kaum an die Ober-

fläche gelangt und infolgedessen nur mit relativ geringen Luft- bez. Sauerstoffmengen in Berührung kommt und da unter diesen Umständen also Oberflächenvegetation schwer möglich, bezw. so gut wie ausgeschlossen ist.

Nach verschiedentlich gemachten Beobachtungen kommen indessen die Organismen, wie z. B. die Hefen, nicht immer dazu, das aufgespeicherte Glykogen auch wieder zu verbrauchen. So kann man nach Mitteilungen von H. Will[1]) in der Bodensatzhefe von alten Zuchten in Würze oder (verflüssigter) Würzegelatine immer auch tote Dauerzellen mit starkem Glykogengehalte antreffen. Näheren Aufschluß über manche im vorstehenden nur kurz berührten Punkte bezüglich des Abbaues des Glykogens durch Organismen kann natürlich erst gegeben werden, wenn von den verschiedensten Seiten eingehendere Untersuchungen darüber vorliegen werden.

Wenn nun auch die Glykogenfrage (dessen Bildung bezw. Abbau durch niedere pflanzliche Organismen) augenblicklich wohl immer noch mehr theoretisch wissenschaftlichen als praktischen Wert besitzt und dementsprechend unser Interesse auch noch mehr in wissenschaftlicher als in praktischer Hinsicht fesselt, so müssen doch schon jetzt wenigstens drei Punk tehervorgehoben und in aller Kürze noch besprochen werden, welche z. T. schon gegenwärtig bezw. späterhin in der angewandten Naturwissenschaft, also in der Praxis der gesamten naturwissenschaftlichen Disziplin, sehr wahrscheinlich eine nicht unwichtige Rolle spielen werden. Es sind dies:

1) das Vorkommen des Glykogens im Eiter und seine etwaige Verarbeitung durch Organismen;

2) die Bedeutung des Glykogens für die Gärungsgewerbe (für Weinbereitung, Bierbereitung event. auch für die Bereitung von Kefir und Kefir-ähnlichen Getränken mit sogenannten Kefirhefen), und zwar in erster Linie für die sogenannte Selbstgärung der Hefe, sowie für die Abstiche der Gärprodukte;

3) die Bedeutung des Glykogens (Bildung und Wiederverarbeitung) für die durch Organismen (Azotobacter, Leguminosenbakterien) ausgelösten Prozesse zur Assimilierung des freien ungebundenen Stickstoffes der Luft.

Was zunächst Punkt 1) anbelangt, so soll bekanntlich nach verschiedentlich gemachten Beobachtungen das Glykogen im Eiter immer in mehr oder weniger größeren Mengen vorkommen als im Blute oder in den Muskeln etc.; nach weiteren Beobachtungen steht es alsdann außer Frage, daß das Glykogen unter geeigneten Bedingungen von den verschiedensten Organismen, unter anderem auch gerade durch Bakterien, eine oftmals lang-

1) Will, H., Die Hefezelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedensten Stadien der Entwickelung und des Zerfalles unter dem Mikroskope. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. XXXII. 1892. p. 1088; cf. auch Lafar, Technische Mykologie. Bd. II. 1901. p. 512.)

samere, oftmals aber auch schnellere Zersetzung erleidet: Es wäre daher ganz wünschenswert, wenn speziell auch von medizinisch-bakteriologischer Seite der Glykogenfrage das Interesse in etwas verstärktem Maße zugewendet würde, um so über den etwaigen Abbau dieses Kohlenhydrates durch im Eiter vorkommende Mikroorganismen [1]), sowie über die Bedeutung etwaiger diesbezüglicher Zersetzungsvorgänge für den ganzen Verlauf von Eiterungsprozessen etwas Näheres zu erfahren.

Alsdann dünkt uns gegenwärtig zunächst in Bezug auf die Bedeutung des Glykogens für die Gärungsgewerbe die Auffassung von Meissner [2]) als die am meisten plausible, nach welcher das Glykogen ebenfalls ganz zweifellos einen Reservestoff darstellt, aber nicht einen Reservestoff, der erst angegriffen und verbraucht wird, wenn die Zelle nach Meissner Mangel an Zucker leidet, sondern einen transitorischen Reservestoff, so daß also Neubildung und Vergärung des Glykogens in der Hefezelle zwei Prozesse darstellen würden, welche gleichzeitig und nur nach den gerade obwaltenden Ernährungsbedingungen in verschieden starker Intensität verlaufen. Nach unserer Ansicht überwiegt die Glykogenbildung den Abbau immer um ein geringes, solange noch überhaupt Zucker vorhanden [3]) ist, so daß in den Zellen tatsächlich eine gewisse Anreicherung, also ein Maximalglykogengehalt, wird beobachtet werden können, und von dem Augenblicke an, wo kein Zucker mehr zur Neubildung von Glykogen den Hefezellen zur Verfügung steht, muß notgedrungen eine mehr oder weniger auffallende Abnahme im Glykogengehalte sich bemerkbar machen, die obendrein möglicherweise auch noch durch einen Maximalsäuregehalt beeinflußt und erhöht wird, welcher sich nach Untersuchungen des Verf. [4]) über Säurebildung und Säureverbrauch durch Hefen im allgemeinen in ähnlicher Weise wie das Glykogenmaximum immer kurz nach beendeter Hauptgärung feststellen läßt. Auf alle Fälle dürfte eine geringe Glykogenzersetzung schon durch organische Säurewirkung bei gewöhnlichen Gärtemperaturen (s. oben) nicht unmöglich sein. Alsdann bedürfen diejenigen Mitteilungen von Meissner, wie oben schon auseinandergesetzt wurde, entschieden einer Nachprüfung, nach denen mikroskopisch eine Abnahme im

1) Anmerkung. Inwieweit also beispielsweise der bei Eiterungsprozessen häufiger vorkommende Bacillus pyocyaneus (welcher übrigens schon einer vorläufigen Prüfung unterzogen wurde) unter geeigneteren Bedingungen eventuell eine weitgehende und schnellere Zersetzung des Glykogens bewirken kann, können erst eingehendere diesbezügliche Untersuchungen ergeben.

2) Meissner, R., Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 553.)

3) Anmerkung. Diese Auffassung würde allerdings kaum Geltung beanspruchen können bei sehr zuckerhaltigen südländischen Weinen oder auch schon bei hochfeinen deutschen Ausleseweinen, die ebenfalls für gewöhnlich infolge ihrer Herstellung (Rosinenbildung etc.) während ihrer späteren Entwickelung bezw. selbst bei ihrer Flaschenreife tatsächlich vielfach noch beträchtliche Mengen unvergorenen Zuckers aufzuweisen pflegen.

4) Heinze, B., Einiges über die Säurebildung durch Pilze etc. (Annales Mycologici. Vol. 1. 1903. p. 345.)

Glykogengehalte der Hefezellen sich schon konstatieren ließe, wenn noch geringe Mengen Zucker (0,3—1 Proz.) vorhanden wären.

Eine große praktische Bedeutung gewinnt nun aber die Glykogenfrage für die Weinbereitung u. s. w. wegen der sogenannten Selbstgärung der Hefe, sowie wegen der Bestimmung des Zeitpunktes zum Abstechen der Weine. Wie wichtig gerade die Selbstgärung der Hefe beispielsweise für den weiteren Ausbau eines Weines ist, geht unter anderem aus den neuesten sehr interessanten Mitteilungen von Wortmann[1]) hervor, welche er beim 20. deutschen Weinbaukongresse in Kreuznach a. d. Nahe in einem Vortrage über die Absticbe der Weine machte. Wortmann teilte unter anderem mit, daß ein guter Teil des Glykogens, soweit seine eigenen diesbezüglichen Untersuchungen reichen, zweifellos beim Abbau der sogenannten Selbstgärung anheimfällt, d. h. daß das Glykogen wie der während der Gärung aufgenommene Zucker vergoren und in Alkohol und CO_2 umgewandelt wird. Diese Mengen von Alkohol und CO_2 sind auch obendrein keineswegs so geringe, daß sie etwa praktisch nicht in Betracht kämen.

Daß die aufgespeicherte Glykogenmenge zuweilen recht beträchtlich sein kann, geht aus weiteren direkten Beobachtungen von Wortmann[2]) hervor, nach denen bei verschiedenem Heferassen wenigstens, durch diese Selbstgärung aus dem Glykogen — natürlich bei intermediärer Bildung von Zucker — noch bis zu 0,8 Proz. Alkohol und ebenso entsprechende Mengen von Kohlensäure gebildet werden. Bis zu einem gewissen Grade kann durch diese Selbstgärung der Hefe ein Wein selbstverständlich noch verbessert werden, zumal auch noch andere wertvolle Produkte des Weines in dieser Periode der Glykogenvergärung entstehen. So schien es Wortmann, daß bei manchen Hefen die Glycerinbildung[3]), welche ja bekanntlich als vielleicht wichtigstes Nebenprodukt bei der Gärung entsteht, in der Hauptsache erst bei und nach Beendigung der Hauptgärung stattgefunden hatte. In Bezug auf den Zeitpunkt des Absticbes

1) Wortmann, J., Ueber die Abstiche der Weine. (Bericht über die Verhandlungen des 20. Weinbaukongresses zu Kreuznach a. d. Nahe im Sept. 1901. Mainz 1902. p. 31—44.)

2) Diese Ergebnisse Wortmanns sind dem Verf. erst während der ausführlicheren Niederschrift seiner eigenen Beobachtungen über die tatsächliche Vergärung bezw. Wiederverarbeitung des Glykogens (s. oben) bekannt geworden.

3) Anmerkung. Als übrigens Verf. seiner Zeit Untersuchungen über die Säure- und Glycerinfrage im Weine in Angriff genommen hatte, konnte er ganz ähnliche Beobachtungen machen: Verschiedene quantitative Glycerinbestimmungen ergaben nämlich, daß tatsächlich im allgemeinen bei beendeter Hauptgärung bezw. kurz nach derselben ein Maximum in der Glycerinbildung zu beobachten ist; allerdings hielt es im allgemeinen immer recht schwer, bei der Glycerinbestimmung, welche nach der allgemein üblichen Methode nach König, Borgmann u. s. w. vorgenommen wurde, allen Zucker bezw. sonstige reduzierenden, aber nicht gärfähigen Substanzen auszuschließen. Infolgedessen muß man bei Beurteilung des Glyceringehaltes von Gärprodukten eine gewisse Vorsicht üben, und wird man immer gut tun, das gewonnene und als Glycerin angesprochene Extrakt nachträglich stets auf etwaige minimale oder größere Mengen an reduzierenden Substanzen zu prüfen.

von Weinen etc. ist indessen auch noch mancher sonstige Punkt zu beachten: So ist ja bekanntlich die Hefe sehr begierig auf den Sauerstoff der Luft; wenn sie also als sogenannte Trubhefe am Boden des Fasses liegt, so absorbiert sie begierig diejenigen Mengen von Sauerstoff, welche mit der atmosphärischen Luft von außen her durch die Faßwandungen in den Wein gelangen; auf diese Weise wird schließlich dem Weine die schädliche Luft entzogen bezw. unschädlich gemacht und der Jungwein so vor einer gefürchteten Weinkrankheit oder Weinfehler, dem sogenannten „Rahnwerden", geschützt. Auch absorbiert die Hefe, besonders in ihrer Membran, die braunen Farbstoffe des Weines, bei Rotweinen allerdings auch den roten Farbstoff in gewissen Mengen und trägt auf diese Weise zugleich zu einem Hellerwerden des Weines bei. Es liegt also, wie Wortmann selbst ausführt, in dieser kurzen Auseinandersetzung zugleich die wissenschaftliche Begründung für die alte praktische Erfahrung, daß man den Wein nicht sogleich von der Hefe nehmen darf, wenn derselbe ruhig geworden ist, denn nach beendeter eigentlicher Gärung wird ja gerade durch die sogenannte Selbstgärung der Hefe noch eine wesentliche Qualitätsverbesserung des Weines erzielt. Auf alle die genannten Vorteile würde man also verzichten, wenn man den Wein zu früh von der Hefe abstechen würde.

Auf alle Fälle ist aber bekanntermaßen auch ein allzulanges Liegenlassen auf der Hefe zu vermeiden, weil im Frühjahr bei Eintritt wärmerer Witterung bereits zu leicht allerlei Fäulniserscheinungen der Hefe etc. eintreten können, welche unter anderem zu oft mehr oder weniger starken unliebsamen Trübungen, weiterhin aber auch bis zum vollständigen Verderben eines Weines führen können. Eingehender soll indessen auf die eventuell mannigfachen auf einen sehr späten Abstich beruhenden Weinkrankheiten oder Weinfehler hier nicht eingegangen, und nur noch besonders die allgemeine Regel bezüglich der Absticbe der Weine hervorgehoben werden, die darin gipfelt, den Abstich, wie auch Wortmann schreibt, „nicht zu früh, aber erst recht nicht zu spät" vorzunehmen.

Der Zeitpunkt, zu welchem der Abstich eines Weines vorzunehmen ist, ist somit, wie schon Wortmann besonders betont, durch den physiologischen Zustand seiner Trubhefe bedingt, und kann in ganz bequemer Weise durch den Glykogengehalt der Hefe kontrolliert werden. Um zuweilen trotzdem eintretende unliebsame Störungen beim weiteren Ausbau eines Weines zu vermeiden, soll man jedoch nicht mit dem Absticbe warten, bis aus sämtlichen Hefezellen das Glykogen verschwunden ist, sondern ihn vornehmen, wenn ungefähr zwei Drittel aller Hefezellen (zumal die älteren Zellen) glykogenfrei, und ein Drittel (vor allem die jüngeren Zellen) noch deutlich glykogenhaltig sind. Nach Wortmann hat übrigens diese wissenschaftliche Bestimmungsmethode des Abstiches des Weines in der Praxis ihre Probe bereits vollauf bestanden; und es kann deshalb nach ihm schon gegenwärtig mit voller Berechtigung gesagt

werden, „daß wir in der mikroskopischen Untersuchung und Kontrolle der Trubhefe tatsächlich ein gutes und sicheres Verfahren haben, um die für die Praxis so wichtige und bedeutungsvolle Zeit des Abstiches der Weine für jeden einzelnen Fall richtig zu bestimmen“. In ähnlicher Weise wird man das Glykogen in seiner Bedeutung für die Herstellung von Bieren aller Art zu würdigen haben. Auch für die Bereitung von Kefir und kefirähnlichen Getränken mit Hilfe von sogenannten Kefirhefen bezw. Lactose vergärenden Torula-Arten mit oder ohne Mitwirkung von Milchsäurebakterien dürfte möglicherweise die Bildung von Glykogen und dessen Wiederverarbeitung eine nicht unwichtige Rolle spielen; indessen sind bezüglich dieser Gärprodukte noch keine speziellen Untersuchungen in dieser Hinsicht angestellt worden.

Schließlich bleibt noch einiges über die eventuelle Bedeutung des Glykogens für die durch Organismen (Leguminosenbakterien, Azotobacterorganismen) eingeleiteten und durchgeführten N-Assimilationsvorgänge in Kürze zu erörtern übrig. Während nun bezüglich der Knöllchenbakterien der Leguminosen noch keine eingehenderen Untersuchungen über die Glykogenbildung, insbesondere auch nicht über die Wiederverarbeitung dieses Kohlenhydrates vorliegen, so bestehen nach den diesbezüglichen Untersuchungen und Beobachtungen des Verf. bezüglich der sogenannten Azotobacterorganismen keinerlei Zweifel mehr, daß von diesen unter günstigen Bedingungen ganz beträchtliche Mengen Glykogen gebildet und auch wieder verarbeitet werden. Ebenso unterliegt es gegenwärtig keinem Zweifel mehr, daß Azotobacter für sich allein ziemlich beträchtliche Mengen von freiem, ungebundenem Stickstoff der Luft während seiner Entwickelung verwerten kann (cf. u. a. Gerlach u. Vogels weitere Untersuchungen über N-sammelnde Organismen. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1902. p. 817 ff. u. 1903. p. 636 etc.) und daß nach unseren bisherigen Kenntnissen die Zucker- bezw. die Calciumverbindungen derselben (die sog. Saccharate) eine der besten, wenn nicht die vorteilhafteste C-Quelle für die Entwickelung und die spezifische Tätigkeit dieser wichtigen Organismen abgeben.

Sicherlich spielt nun das Glykogen (seine Bildung und sein Verbrauch) für die Azotobacterorganismen unter anderem immer auch dann eine überaus wichtige Rolle, wenn im Erdboden oder in sonstigen Kulturmedien relativer bezw. absoluter Mangel an löslichen Kohlenhydraten (Pektinstoffen, Zucker etc.) eintritt; bei Vorhandensein geeigneter Stickstoffformen und geringen N-Mengen werden diese Organismen das in großen Mengen aufgespeicherte Glykogen selbst zersetzen (eine Art Selbstgärung erleiden), dabei unter anderem Zucker bilden und so unter Umständen ihre N-Assimilationstätigkeit immer wieder von neuem entfalten können.

Hiermit würde auch die Auffassung von Hiltner[1]) in gewissen

---

1) Cf. hierzu die diesbez. Mitteilungen von Hiltner u. Störmer, Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger. (Arb. a. d. biol. Abteil. d. Kaiserl. Ges.-Amtes. Bd. III. 1903. p. 151—307.)

Einklang zu bringen sein, nach welcher die sogenannten Bakteroïdenformen der Knöllchenbakterien (die ja zweifellos nach neueren Beobachtungen auch des Verf. als die eigentlichen Träger der N-Assimilationsvorgänge anzusehen sind) geradezu erst mit geeigneter Stickstoffnahrung, und zwar möglicherweise am besten mit Amiden und Amidosäuren, wie beispielsweise Asparagin und Asparaginsäure, versorgt werden müssen, um ihre volle Assimilationstätigkeit entfalten zu können. Wie bei der Hefeglykogenfrage, wird man aber auch hier mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß das Glykogen als Reservestoff nicht erst verbraucht wird, wenn die Zelle Mangel an Zucker oder anderen Stoffen (wie Milchsäure, Propionsäure bezw. deren Salze), welche ebenfalls an Stelle von Kohlenhydraten den Azotobacterorganismen als C-Nahrung dienen können, leidet, sondern wahrscheinlich ebenfalls als transitorischer Reservestoff beurteilt werden muß. Glykogenbildung und Glykogenverbrauch würden alsdann zwei gleichzeitig nebeneinander verlaufende Prozesse darstellen, von denen nur je nach den gerade obwaltenden bodenklimatischen[1]) Verhältnissen der eine oder andere Prozeß überwiegt bezw. auch allein sich abspielen kann.

Wenn man nun auch über den Assimilationsvorgang des ungebundenen N als solchen bereits ziemlich viel (wenigstens in theoretischer Hinsicht) weiß und manches auch schon praktisch erprobt hat, so weiß man allerdings über das Wie dieses Vorganges gegenwärtig erst wenig mehr als bloße Vermutungen und Ansichten, die der experimentellen Beweisführung harren.

Verf. selbst neigt nun zu der Ansicht (die im allgemeinen auch von Gerlach u. Vogel[2]) geteilt wird), daß im Innern der Azotobacterorganismen durch direkte Anlagerung von freiem Stickstoff an organische Kohlenstoffverbindungen stickstoffhaltige Stoffe, und zwar ammoniak- bezw. amidartige Körper, gebildet werden, welche jedoch zunächst wohl nicht in nennenswerten Mengen ausgeschieden, sondern im Zellinnern in Eiweiß übergeführt werden. Im übrigen ist der Organismenkörper in gewissem Entwickelungszustande sehr stickstoffreich, in anderem Entwickelungszustande wiederum äußerst glykogenreich. Nach Untersuchungen von Gerlach u. Vogel soll der Organismenkörper oftmals bis zu 80 Proz. Eiweiß enthalten. Schon bei gewissen in ihren Einzelwirkungen noch nicht näher bekannten Aenderungen des Bodenklimas (weiterhin beim Absterben von Organismen) dürften alsdann weitgehende Zersetzungen der Eiweißkörper vor sich gehen, und damit der N möglicherweise zunächt in Form von Salzen des Hydroxylamins oder der Karbaminsäure in die umgebende Kulturflüssigkeit bezw. in den Erdboden gelangen, möglicherweise aber auch in Form von cyansaurem Ammoniak unter weiterer Umlagerung des-

---

1) Unter „Bodenklima“ möge hier im Sinne Remys die Gesamtheit der einer mannigfaltigen Organismenflora in einem bestimmten Boden sich bietenden Existenzbedingungen bezeichnet werden; zu diesem „Bodenklima“ steht also der Bestand an Mikroorganismen in engster Beziehung (cf. Mentzel u. Lengerkes landw. Kalender. 1903. p. 84).

2) Gerlach u. Vogel, Weitere Versuche mit Stickstoff bindenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 883.)

selben in Harnstoff, Verseifung dieses Körpers unter Bildung von CO_2 und Ammoniak, welches dann allmählich zum Teil durch dieselben Organismen in gewissen Entwickelungszuständen (was nach neueren Beobachtungen gar nicht unwahrscheinlich ist), und zum Teil durch andere Organismen (durch die bekannten Winogradskyschen nitrifizierenden Organismen, wie auch sehr wahrscheinlich durch Schimmelpilze) die bekannte Nitrifikation erleidet.

Nachdem es übrigens jüngsthin der modernen Chemie wie bekannt gelungen ist, eine direkte Anlagerung von freiem atmosphärischen Stickstoff an Kohlenstoffverbindungen und damit die Bildung amidartiger Körper zu erzielen, was allerdings bisher als etwas völlig Ungewöhnliches galt, so ist es also schließlich auch mehr als wahrscheinlich, daß ein derartiger bezw. ähnlicher Prozeß sich im Zellinnern von niederen Organismen abspielen kann. Wie nun der chemische Prozeß zeigt, wird dabei allerdings eine ganz bedeutende Energiemenge verbraucht. Diese liefert jedoch bei der Assimilation des N der Traubenzucker bezw. Aehnliches leistende Substanzen, welche bei diesem Vorgange zersetzt werden: Um 9 mg Stickstoff zu binden, müssen beispielsweise nach Gerlach und Vogel (s. oben) fast 1000 mg Traubenzucker in Kohlensäure und Wasser übergeführt werden, während zum Aufbau des Organismenkörpers selbstverständlich nur ein ziemlich geringer Teil desselben notwendig wäre.

Die Bindung des freien Luftstickstoffes ist bekanntlich nach A. Frank[1]) auf rein chemischem Wege neuerdings in Form von Calciumcyanamid bezw. in Form des polymeren Dicyandiamids gelungen und damit in ersterem ein Ersatzdüngemittel gewonnen worden, welches bezüglich seiner gegenwärtig anscheinend sehr verminderten Herstellungskosten (bei Vorhandensein von billiger elektrischer Kraft) wie auch bezüglich seines Wirkungswertes als Düngemittel voraussichtlich schon in allernächster Zeit erfolgreich mit dem Chilesalpeter wird konkurrieren können, soweit man wenigstens die ganze Frage gegenwärtig nach den besonders von Gerlach und Wagner[2]) angestellten mannigfachen Vege-

1) Vgl. hierzu unter anderen Literaturangaben: Adolf Frank, Die Nutzbarmachung des ungebundenen Stickstoffes der Luft für Landwirtschaft und Industrie. (Chemikerztg. Bd. XXVII. p. 542.)

2) Gerlach und Wagner, Neues über die Verwendung des Luftstickstoffes („Kalkstickstoff“). (Deutsche landwirtschaftl. Presse Bd. XXX. 1903. No. 42): Bei ihren Mitteilungen über die mit dem „Kalkstickstoff“ — Calciumcyanamid — als event. Ersatzmittel für den Chilesalpeter angestellten Düngungsversuchen und den Ergebnissen derselben, erwähnen übrigens merkwürdigerweise Gerlach und Wagner gar nicht den Namen Adolf Franks, desjenigen Mannes, welchem doch wohl zweifellos das Hauptverdienst bezüglich der ganzen reinchemischen N-Bindungsfrage zukommt, da er mit seinen Mitarbeitern das Calciumcyanamid dargestellt hat. Im übrigen wird dieser Körper, dem die Formel $CN.NCa \left[N{<}\begin{smallmatrix}Ca\\CN\end{smallmatrix}\right]$ zukommt, nach A. Frank, welcher auf früheren ähnlichen Versuchen weitergebaut hat, gewonnen, indem man atmosphärische Luft, die durch Leiten über metallisches Kupfer zum größten Teile von ihrem Sauerstoffgehalt befreit worden ist, in geschmolzenes Calciumcarbid einpreßt, jener Verbindung, aus welcher bekanntlich das Acetylengas gewonnen wird. Uebrigens konnte durch weitere Versuche gezeigt werden, daß es gar nicht einmal nötig ist, fertig

tationsversuchen beurteilen kann. Doch so außerordentlich wichtig und aussichtsvoll[1]) dies ist, so bleibt die *Lösung der Stickstoffbindungsfrage auf chemisch-physiologischem, bezw. chemisch-biologischem Wege*, also mit Hilfe von *Organismen* nach wie vor in ihrer Wichtigkeit bestehen. Freilich liegen hier die Verhältnisse ziemlich verwickelt (zumal bezüglich der Legumosenbakterien bezw. Gründüngungsfrage) und man sieht gegenwärtig auch bezüglich der Tätigkeit der frei im Boden lebenden *Azotobacterorganismen* noch nicht vollständig klar, welche einzelnen Phasen bei den N-Assimilationsvorgängen unterschieden werden müssen, und in welcher Reihenfolge sie etwa verlaufen.

Gleichwohl hat man ja auch bei dieser Frage schon manchen wichtigen Anhaltspunkt zur endgültigen Lösung gewonnen, und gerade die *Glykogenbildung* und der *Glykogenverbrauch* durch die *Azotobacterorganismen* wie auch wahrscheinlich durch die *Leguminosenbakterien* dürfte zur weiteren Klärung der N-Assimilationsvorgänge nicht unwesentlich beitragen; mancher Schritt ist bereits vorwärts getan und durch die rastlose bakteriologische Forschung der letzten Jahre, welche vielerorts mit einigem Erfolg eingesetzt hat, ist auch mit einer gewissen Berechtigung der Ausblick auf neue Wege zu einer für die Kulturpflanzen möglichst ausgiebigen Nutzbarmachung der natürlichen Stickstoffquellen, insbesondere auch derjenigen des ungebundenen Stickstoffs der Luft, eröffnet worden.

Wie oben schon erwähnt, wird man also bei dem Vorgange der Stickstoffassimilation zunächst mit einer Anlagerung von freiem N im Zellinnern an Kohlenstoffverbindungen, also der Bildung von amidartigen Körpern irgend welcher Art, rechnen müssen. Uebrigens fixiert auch das künstlich dargestellte *Cyanamid*, welches sich einerseits wie eine schwache Base, andererseits wie eine schwache Säure verhält, bei Einwirkung verdünnter Säuren die Elemente des Wassers unter Bildung von Harnstoff ($CN.NH_2 + H_2O = C\begin{cases} -NH_2 \\ =O \\ -NH_2 \end{cases}$) und in analoger Weise vereinigt es sich mit H_2S zu Sulfoharnstoff $\left(C\begin{cases} -NH_2 \\ =S \\ -NH_2 \end{cases}\right)$. Nach den Mitteilungen von A. *Frank*

---

gebildetes CaC_2 zu verwenden, sondern daß die oben genannte Verbindung auch erhalten werden kann, wenn man Stickstoffgas durch die mittelst des elektrischen Stromes geschmolzene Masse der Rohprodukte, — nämlich Kohle und Kalk — leitet.

1) Allmähliche vollständige Unabhängigkeit der deutschen Landwirtschaft von den Salpeterlagern Chiles, wie auch vor allem von den Spekulationen der Börse; ganz abgesehen davon, daß diese Salpeterlager in 30—40 Jahren, wenn nicht schon früher, aller Wahrscheinlichkeit nach abgebaut sein werden, und abbauwürdige andere Lager bisher noch nirgends aufgefunden worden sind, so würden, bei diesen Aussichten, wenn auch anfangs nicht in der vollen Höhe, so doch späterhin dem deutschen Nationalvermögen alljährlich etwa 100 Millionen Mark erhalten bleiben, denn so hoch belaufen sich die Summen, welche allein die deutsche Landwirtschaft pro Jahr ans Ausland für ihren Bedarf an Salpeterdünger gezahlt hat und noch zahlt.

(s. oben) läßt sich auch der gesamte Stickstoff des Calciumcyanamides, sowie des daraus rein dargestellten Cyanamides durch Erhitzen mit Wasser unter hohem Druck ganz glatt in Ammoniak überführen bezw. weiterhin zu schwefelsaurem Ammoniak verarbeiten. Die Umwandlung des Cyanamides in Ammoniak erfolgt aber auch schon allmählich unter Wasseraufnahme im Ackerboden; diesen Prozessen dürfte sich alsdann im allgemeinen die bekannte Nitrifikation anschließen.

Wollte man nun auf physiologisch-chemischem bezw. biologisch-chemischem Wege ebenfalls die Entstehung von Cyanamiden (bezw. anderen amidartigen Körpern) bei der N-Assimilation annehmen, so könnte man im Ackerboden bezw. auch sonst in Kulturen unter allmählicher Wasseraufnahme nach der folgenden Gleichung:

$$\left[N\begin{array}{l} \diagup ca+OH \quad H \\ -ca+OH \quad H \\ \diagdown NC+OH\,.\,H \end{array} = Ca(OH)_2,\ N:CONH_4\right]$$

zunächst auch wohl eine Bildung von cyansaurem Ammoniak (NCOH, NH_3) bezw. unter weiterer Wasseraufnahme und Umlagerung (H . OH) eine Bildung von karbamidsaurem Ammoniak (NH_2.COOH, NH_3) annehmen; beide Verbindungen sind ziemlich leicht in den (dem cyansauren Ammoniak) isomeren Harnstoff $C{=}O\begin{array}{l}\diagup NH_2\\ \diagdown NH_2\end{array}$ bezw. auch in CO_2 und NH_3 überzuführen. — Die andere von Frank künstlich gewonnene Verbindung, das Dicyandiamid, hat wahrscheinlich die Konstitutionsformel:

$$N{\equiv}C{-}NH{-}C\begin{array}{l}\diagup NH_2\\ \diagdown NH\end{array}$$

(cf. u. a. Bernthsen, Org. Chemie. 1895. p. 275), kommt indessen aus verschiedenen Gründen als Düngemittel nicht in Betracht. — Im übrigen müssen natürlich über die etwaigen Stoffwechselprodukte von N-sammelnden Organismen, insbesondere auch gerade bei den Azotobacterorganismen erst eingehendere Untersuchungen nach der verschiedensten Richtung hin angestellt werden, und zwar unter Verwendung möglichst verschiedenartigen Impfmateriales, Verwendung von N-freien und N-haltigen Medien bei verschiedenen N-Formen in minimalen und auch größeren Mengen, sowie unter besonderer Berücksichtigung der mit Azotobacter angesetzten Kulturen in ihren verschiedensten Entwickelungszuständen, um auf diese Weise den Vorgang der N-Assimilation durch Organismen, also den physiologisch-chemischen bezw. chemisch-biologischen Prozeß in seinen einzelnen Phasen genauer beurteilen zu können: Eine spätere Zeit wird uns hierüber sicherlich mehr und mehr befriedigende Aufklärung bringen.

Schließlich können aber bereits mancherlei Maßnahmen erwähnt werden, welche schon jetzt oder in Zukunft mehr oder weniger zur Vermehrung des Stickstoffvorrates einer Wirtschaft mit Hilfe von stickstoffsammelnden Organismen Berücksichtigung finden müssen, obwohl dieselben erklärlicherweise vielfach noch

weit ausgedehnterer Studien als bisher bedürfen, bevor man sie eventuell allgemein wird empfehlen können. Es sind dies die bekannten, schon oftmals erörterten, teilweise auch bereits recht erfolgreichen Maßnahmen beim Anbau von Leguminosen (Gründüngungspflanzen) bezw. zur Züchtung vollwirksamer Knöllchenbakterien und weiterhin nun diejenigen Maßnahmen, welche möglicherweise die frei im Boden, also ohne Symbiose mit Pflanzen wie die Leguminosenbakterien, lebenden sogenannten Azotobacter-Organismen neben anderen ebenfalls N-sammelnden Organismen zu einer reichlichen Entwickelung und Tätigkeit bringen. Nach neueren Untersuchungen des Verf. (siehe oben) sind gerade die Azotobacter-Organismen in der Natur sehr weit verbreitet und dürften wohl gerade in den Ackerböden überall vorkommen, wenn man sie auch vielfach in denselben noch nicht hat nachweisen bezw. bei Verwendung von Boden als Impfmaterial in event. geeigneten Nährlösungen wie auch weiterhin auf festen Nährböden noch nicht hat zur Entwickelung bringen können. Auch wird man zweifellos späterhin in ähnlicher Weise bezüglich der Entwickelung und vollwirksamen Tätigkeit der Leguminosenbakterien ohne eine Impfung des Ackerbodens auskommen müssen, wofern man nur deren Entwickelungsbedingungen noch mehr klargelegt hat und zu beherrschen weiß.

Wie nun auch Remy[1]) in einem in mancher Beziehung interessanten Aufsatze „Ueber die bakteriellen Hilfsmittel zur Erhaltung und Vermehrung der in der Wirtschaft umlaufenden Stickstoffvorräte“ schreibt, wird man im allgemeinen die soeben angedeuteten Maßnahmen dahin zusammenfassen müssen, ein nach Möglichkeit den Bedürnissen der frei lebenden N-sammelnden Organismen angepaßtes „Bodenklima“ zu schaffen. — Leider ist jedoch unser Einblick in die Daseinsbedingungen dieser kleinen Lebewesen (Azotobacter, Clostridium, Granulobacter?) noch keineswegs ein derartiger, um ein auf die Ausnutzung dieser N-sammelnden Bodenorganismen gerichtetes allgemeines System der Bodenbehandlung zu empfehlen. Dabei muß ja bekanntlich vor allem auch berücksichtigt werden, daß die mehr oder weniger recht heterogenen Glieder dieser niederen pflanzlichen Lebewesen in ihren Lebensbedürfnissen so wenig übereinstimmen, daß sie schwerlich alle durch dieselben Kulturmaßnahmen Förderung erfahren.

Für die Vermehrung der Azotobacter-Organismen wird man jedoch nach neueren Beobachtungen und Untersuchungen des Verf. folgende Punkte als unter Umständen recht vorteilhaft berücksichtigen und weiterhin im Auge behalten müssen: Es sind dies Kalken und eventuelles auch ein schwaches Gypsen des Ackerbodens; Zufuhr von geeigneten Phosphorsäuredüngern; rechtzeitiges Unterpflügen von Stoppeln etc. kurz nach der Ernte, oder schon während derselben; ausreichende Lüftung durch Lockerung bei einigermaßen ausreichendem Feuchtigkeitsgehalte des

1) Remy, Th., Ueber die bakteriellen Hilfsmittel zur Erhaltung und Vermehrung der in der Wirtschaft umlaufenden N-Vorräte. (Mentzel und Lengerkes landwirtsch. Kalender. 1903. p. 85.)

Bodens; Brachhaltung bezw. der Brachhaltung einigermaßen entsprechende Maßnahmen. Näheres darüber kann indessen erst später berichtet werden.

Wie alsdann auch Remy in dem obengenannten Aufsatze weiterhin schreibt, hatte man bekanntlich schon längere Zeit besonders der Schwarzbrache einen spezifisch günstigen Einfluß auf die N-sammelnde Fähigkeit eines Bodens zugeschrieben, ohne daß es bisher gelungen wäre, einen unwiderleglichen Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme zu erbringen. Es ist zwar schon festgestellt worden, daß in Fruchtfolgen mit Brache auf längere Jahre ein Stickstoffraubbau möglich ist, ohne daß der Stickstoffzustand des betreffenden Bodens sichtbar leidet. Aber auch ohne Brache ist etwas Derartiges möglich, indem beispielsweise an der Hand eines in Halle durchgeführten statischen Versuches erst neuerdings von Geheimrat J. Kühn ein schlagender Beweis gebracht worden ist. Eine zwingende Veranlassung zur Annahme einer Stickstoffsammlung lag allerdings bisher weder in dem einen noch in dem anderen Falle vor, da die über die Zufuhr hinausgehende Entnahme von Bodenstickstoff, wie auch Remy ausführt, sich durch eine vorübergehende starke Heranziehung des in jedem Kulturboden auf Tausende von Kilogramm sich belaufenden N-Vorrates erklären ließe. Die Brache zu empfehlen, um die N-sammelnden Organismen zu einer besonders ergiebigen Tätigkeit zu veranlassen, wäre allerdings nach dem soeben Gesagten jedenfalls verfrüht; auch hält natürlich Verf. selbst gegenwärtig eine direkte, eventuell allgemeine Empfehlung der Brache noch für verfrüht, nachdem bereits vor längerer Zeit bei den von Krüger und dem Verf. in Angriff genommenen Untersuchungen über die Brache, gerade das Vorkommen der überaus wichtigen Azotobacter-Organismen im Brachbodenvon Lauchstädt festgestellt werden konnte. (Vergl. hierzu auch die oben angeführte Notiz über das Vorkommen der Azotobacter-Organismen.) Weiterhin konnte Verf. in Parzellen, welche entweder gerade zur Zeit der Untersuchung in Brache genommen waren oder in vorangegangenen Jahren sich einmal in Brache befunden hatten, regelmäßig diese wichtigen Organismen nachweisen und zwar auch während der verschiedenen Jahreszeiten bezw. während der Ackerboden sich in ganz verschiedenen Zuständen der Gare befand. Obendrein lassen manche Beobachtungen des Verf. auch darauf schließen, daß die Zahl der Azotobacter-Organismen in Brachparzellen im allgemeinen eine viel größere ist und nach den bisherigen Beobachtungen etwa das 5- bis 6-fache beträgt als in früher gebrachten Parzellen bezw. in solchen Parzellen desselben Teilstückes, welche überhaupt noch nicht in Brache genommen waren, aber doch ebenfalls Azotobacter-Vegetationen konstatieren ließen. Näheres wird darüber anderweitig in einer besonderen Abhandlung erst später bekannt gegeben werden.

Wie schon Remy des weiteren noch ausführt, so braucht alsdann die Brache in ihrer allbekannten, zum größten Teile auf andere Ursachen zurückzuführenden Bedeutung für die Kultur der schweren Böden deshalb natürlich doch nicht unterschätzt zu werden; im

übrigen aber kann sich Verf. im allgemeinen natürlich vollständig den Ausführungen Remys anschließen, wenn er schreibt:

„Ob aber die unverkennbaren Vorteile derselben durch Verzicht auf eine volle Jahresernte nicht zu teuer erkauft sind, ist eine rechnerische Frage, die je nach den örtlichen Verhältnissen verschieden, in der Regel aber wohl bejahend zu beantworten sein wird. An regelmäßige Schwarzbrache auf leichtem Boden wird wohl niemand im Ernste denken. Will man hier von Zeit zu Zeit eine Jahresernte opfern, so wird der Anbau von Gründüngungslupinen für gewöhnlich den Vorzug vor der Brache verdienen. Denn dadurch werden Sickerverluste sicherer vermieden, die auf das mechanisch-physikalische Verhalten des Bodens günstig wirkenden humusbildenden Substanzen werden vermehrt, dem nachfolgenden Flachwurzeler die Wege in die Tiefe gebahnt und damit Nährstoffe und Wasser einer größeren Bodenmasse erschlossen, endlich zweifellos ungleich größere Stickstoffmengen gesammelt als durch Brachhaltung[1]). Dieselben Gesichtspunkte werden auch für die Entscheidung der Frage maßgebend sein, ob nach früh das Feld räumenden Vorfrüchten der Anbau N-sammelnder Stoppelfrüchte oder herbstliche Bearbeitung den Vorzug verdienen."

„Bei den Sandböden in allen ihren Abstufungen, ebenso bei leichten Lehmböden kann die Antwort nicht zweifelhaft sein, sie bilden die ernstlich wohl kaum zu bestreitende Domäne der N-sammelnden Gründüngungsstoppelfrüchte, sofern nicht besondere Gründe (starke Verunkrautung des Bodens, große Herbstdürre) gegen den Anbau dieser sprechen."

„Auf den Tonböden wird dagegen eine sorgsame Bodenbearbeitung in der Regel wohl den Vorzug vor dem im Erfolge unsicheren Stoppelfruchtbau verdienen."

„Es fragt sich nur, wo zwischen diesen Extremen die Grenze liegt, bei der der Gründüngungs-Stoppelfruchtbau zu Gunsten einer herbstlichen Bodenbearbeitung zurücktreten muß."

Schon Maercker[2]) hat mancherlei Erfahrungen in Bezug auf die Gründüngung in Lauchstädt sammeln können, aus denen hervorgeht, daß bei geeigneter Pflanzenwahl auch auf kräftigen Lehmböden mit der Gründüngung noch recht gute Erfolge zu erzielen sind; von Schneidewind[3]) werden diese Versuche teilweise abgeändert und erweitert fortgeführt: die Resultate sind den früheren ähnlich, so daß die Sache für die Gründüngung nicht ungünstig liegt und bei etwaigen hohen Salpeterpreisen, bezw. bei ebenfalls hohen Preisen von Düngemitteln, die in ähnlicher Weise günstig wirken, sich wahrscheinlich noch günstiger gestalten wird. Mit der eventuellen Steigerung dieser Preise steigen die Chancen für die Gründüngung; dazu kommt noch die Nachwirkung der Gründüngung, welche bei früheren Versuchsplänen nicht festgestellt

---

1) Ob speziell diese Ansicht richtig ist, bedarf wohl erst zweifellos eindeutiger vergleichender Untersuchungen. D. Ref.

2) und 3) Vergl. hierzu die verschiedenen Jahresberichte über die Versuchswirtschaft Lauchstädt der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen.

werden konnte. Jedenfalls verdient auch nach den neueren Versuchen von Schneidewind die Gründüngung in Form von Erbsen, Bohnen und Wicken nach Roggen, Wintergerste und frühreifender Sommergerste, zu Zuckerrüben und Kartoffeln volle Beachtung.

Einige andere Versuche werden von Remy noch mitgeteilt, indem er an die Maerckerschen Erfahrungen anknüpft und schreibt: „Minder günstig waren die Ergebnisse für die Gründüngung bei den unter ähnlichen Bodenverhältnissen von Liebscher[1]) und später von Edler[2]) in Göttingen durchgeführten Versuchen. Hier zeigte sich die Brachbearbeitung in ihrer Wirkung auf die erste Nachfrucht der Gründüngung meist überlegen. Die Frage dürfte also für diese Böden noch nicht abgeschlossen sein. Auch werden Jahreswitterung, Klima und eine Reihe von anderen Umständen für den Erfolg des gewählten Verfahrens mitbestimmend sein.“

Manche Erwartungen, welche sich in den vorstehenden Ausführungen unter anderem zunächst auf die Glykogenfrage, auf die diesbezüglichen neueren Beobachtungen, insbesondere auch in ihrer eventuellen großen Bedeutung für die gesamte Stickstoffassimilationsfrage gründen, werden möglicherweise nicht verwirklicht werden; ein Ziel dürfte jedoch in nicht mehr allzu weiter Ferne liegen, nämlich die Kulturgewächse wenn auch jemals kaum ausschließlich, so doch wenigstens vorwiegend aus natürlichen Quellen mit Stickstoff, besonders auch unter Ausnützung von Bodenorganismen mit freiem ungebundenen N der Luft zu versorgen; auf den neu betretenen Wegen wird man diesem Ziele von den verschiedensten Seiten sicherlich immer näherzukommen wissen. Auch das weitere Studium der Glykogenfrage dürfte einen kleinen Beitrag zur Erreichung des Zieles liefern.

Halle a. S., im Februar 1904.

Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums in Zürich.]

Von Prof. Dr. **R. Burri.**

(Schluß.)

c) Nicht fadenziehendes Serum aus Gährprobenmilch.

Milchzuckeragar in hoher Schicht. Die zwei Milchproben haben übereinstimmend und der Erwartung entsprechend keine schleimig-faden-

---

1) und 2) Vergl. hierzu Remy, Th., Ueber die bakteriellen Hilfsmittel zur Erhaltung und Vermehrung der in der Wirtschaft umlaufenden N-Vorräte. (Mentzel u. Lengerkes Kalender. 1903. p. 87.)

ziehenden Kolonieen geliefert. Der nicht schleimige Typus des Bact. Güntheri war in beiden Proben vertreten.

Molkengelatineplatten. Auch hier fehlen ausgesprochen schleimige Kolonieen. Aus einer der Gärproben, die sich durch ziemlich starke Gasbildung ausgezeichnet hatte, sind vorwiegend Kolonieen des Bact. aërogenes gewonnen worden. Schleimige Kokkenkolonieen wurden so wenig als nicht schleimige in diesen Kulturen gefunden.

Es haben also die mit dem am 30. Oktober gesammelten Material vorgenommenen Untersuchungen hinsichtlich der Frage nach der Ursache der geschilderten abnormalen Erscheinung in Milch und Käse zu einem befriedigenden Abschluß geführt. Denn einerseits ist es gelungen, denselben schleimbildenden Organismus, der schon gelegentlich zweier früherer in H. erfolgten Probenahmen isoliert worden war, in allen Fällen wiederzufinden, wo seine Anwesenheit vorausgesetzt werden durfte; andererseits war er in normal beschaffenen Milch- und Käseproben nicht zu finden. Die Frage, ob die gelegentlich der Verarbeitung des Probematerials vom 21. Oktober in den fehlerhaften jungen Käsen mit Hilfe des Plattenverfahrens in großer Zahl nachgewiesenen schleimbildenden Kokken mit dem Auftreten des Fehlers in ursächlichem Zusammenhang stehen, darf wohl auf Grund der mit fadenziehender Gärprobenmilch erzielten Resultate bei Plattenkulturen in verneinendem Sinne beantwortet werden. Die charakteristische Beschaffenheit der fehlerhaften Milch hat sich in der Gärprobe offenbar ohne Mitwirkung von Kokken entwickelt und von den Vorgängen in der Milch wird man in diesem Falle ohne weiteres auf diejenigen im Käse schließen dürfen.

C. Ueber Versuche, welche den Zweck hatten, den Fehler in Milch hervorzurufen.

Schon von dem am 15. Oktober in meine Hände gelangten Material (aus jungem Käse) ist eine geringe Menge auf sterilisierte und auf kurz vorher aufgekochte frische Milch übertragen worden in der Absicht, im einen oder anderen Falle eine Vermehrung bezw. Anreicherung der gesuchten Kleinwesen zu erzielen, die natürlich im Falle des Mißlingens der direkten Isolierungsversuche gute Dienste hätte leisten können. Das Resultat dieser Uebertragungen bestand darin, daß bei 37° C nach 24 Stunden nur bei der sterilisierten Milch schwach fadenziehende Beschaffenheit, bei der bloß aufgekochten überhaupt keine solche wahrzunehmen war und daß nach 2 × 24 Stunden beide Proben infolge Säurebildung geronnen waren, ohne daß sich bezüglich der schleimigen Beschaffenheit eine Aenderung gezeigt hätte.

Aehnliche Uebertragungsversuche wurden am 21. Oktober vorgenommen und zwar diesmal mit dem außerordentlich stark schleimigen Serum aus der Gärprobe 3. Von diesem Material wurde je eine große Oese auf rohe Milch, auf 10 Minuten lang auf 98° erhitzte Milch und auf sterilisierte Milch verimpft und eine Reihe der Kulturen bei 30°, eine andere bei 37° C aufgestellt. Nach 24 Stunden war unter den bei 30° C aufgestellten Proben nur die

sterilisierte Milch deutlich, doch nur schwach fadenziehend geworden, während bei 37° neben der sterilisierten auch die rohe Milch schleimig geworden war, letztere sogar „sehr schön," wie die betreffende Notiz besagt. Auch nach 40 Stunden und selbst nach 5 Tagen (wovon die 3 letzten bei Zimmertemperatur) war die fadenziehende Beschaffenheit in der rohen wie in der sterilisierten Milch noch in deutlicher Weise vorhanden. Daß im Gegensatz zu diesem Verhalten die nur kurze Zeit der Siedetemperatur ausgesetzte Milch den Fehler nicht auf sich übertragen ließ, ist eine bemerkenswerte Tatsache, welche hier nicht weiter erörtert werden soll.

Das am 30. Oktober in H. enthobene Untersuchungsmaterial ist wiederum zu Uebertragungsversuchen im angedeuteten Sinne benutzt worden und zwar wurde von allen 5 Proben je eine geringe Menge auf rohe, auf pasteurisierte und auf sterilisierte Milch verimpft. Die Versuchstemperatur war 38° C. Das Ergebnis dieser Versuche muß als ein ziemlich widerspruchsvolles bezeichnet werden. Von den 15 geimpften Milchproben waren nämlich nach 18 Stunden nur 4 fadenziehend geworden, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

Pasteurisierte Milch geimpft mit fadenziehendem Käse	recht stark fadenziehend,
Sterilisierte Milch geimpft mit fadenziehender Gärprobenmilch 3b	sehr stark fadenziehend
Sterilisierte Milch geimpft mit nicht fadenziehender Gärprobenmilch 8b	schwach fadenziehend

Als die Proben etwas mehr als 24 Stunden alt waren, wurden sie nochmals geprüft, aber keine derselben, ausgenommen die 4 soeben aufgeführten, ließ schleimige Beschaffenheit erkennen. Jene 4 aber waren seit Mittag auffallend schwächer fadenziehend geworden. Die mit Material aus der Gärprobe 3b geimpfte sterilisierte Milch, aus deren Serum sich mittags 3 Uhr mehrere Centimeter lange Fäden ziehen ließen, erwies sich abends 9 Uhr als nur noch schwach schleimig. Dieses Verhalten ist auffallend, wenn man bedenkt, daß die 40 Stunden alten Gärproben den Fehler im schönsten Stadium zeigen. Uebrigens stimmt mit dem schnellen Schwinden der schleimigen Beschaffenheit der Ausfall von Weiterimpfungen überein, die mit geringen Mengen der 4 im Alter von 18 Stunden noch deutlich fadenziehenden Kulturen unter Beibehaltung des entsprechenden Nährbodens ausgeführt worden sind. Nach Verlauf von 16 Stunden war keine dieser Tochterkulturen merkbar fadenziehend geworden. Entweder sind die spezifischen Schleimbildner zur Zeit der Abimpfung in der Ausgangskultur schon nicht mehr lebenskräftig gewesen oder sie hatten das Schleimbildungsvermögen aus irgend welchen Gründen eingebüßt. Nach der Uebereinstimmung der mikroskopischen Bilder von fadenziehenden Ausgangs- und nicht fadenziehenden Tochterkulturen könnte man geneigt sein, sich für die zweite Erklärungsweise zu entscheiden, doch will ich auf eine Diskussion der vorhandenen Möglichkeiten nicht weiter eintreten, wie ich auch eine Erörterung über die Ursachen des

bereits hervorgehoben, widerspruchsvollen Verhaltens der obigen Serie von Uebertragungsversuchen, als die Hauptfragen zu wenig berührend, beiseite lassen möchte. Nur so viel sei gesagt, daß der negative Ausfall der Verimpfungen der verschiedenen Materialien auf rohe Milch höchst wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß als solche zufällig nicht frischgemolkene, sondern gewöhnliche Marktmilch zur Verfügung stand. Diese ist aber im allgemeinen als ungünstiger Nährboden für irgendwelche eingeimpfte Keime zu betrachten, indem die letzteren nur unter besonders günstigen Umständen die Oberhand über die in der Marktmilch schon angesiedelten und in Vermehrung begriffenen gewöhnlichen Milchsäurebakterten gewinnen.

Nachdem vorläufig die Beschaffung neuen Materials, mit welchem man eine Wiederholung der Uebertragungsversuche auf frischgemolkene Milch hätte vornehmen können, nicht in Aussicht stand, sollte die Uebertragung des Fehlers mit Hilfe von Reinkulturen des schleimbildenden Organismus auf eine beliebige frische Milch in Angriff genommen werden.

Die bisher isolierten zahlreichen Stämme eines schleimbildenden Stäbchens mit den Wuchsformen des Bact. Güntheri hatten bei der Verimpfung auf sterilisierte Milch bei 38° C übereinstimmend folgende Wirkung geäußert: Die Milch gerann, selten vor, meist nach 24 Stunden in derselben Weise, als ob sie mit Bact. Güntheri geimpft worden wäre. Von fadenziehender Beschaffenheit des spärlichen, klaren Serums, wie auch des Koagulums war nichts zu bemerken, mochte man die Kultur im Alter von 24 Stunden oder früher oder später darauf hin prüfen. Es wäre nun naheliegend, anzunehmen, daß die Reinkulturen des Organismus bei Ueberimpfung auf sterilisierte Milch ihr Schleimbildungsvermögen rasch verlieren. Dies ist jedoch durchaus nicht der Fall, wie folgende Versuche beweisen. Drei außerordentlich große und intensiv fadenziehende Kolonieen aus einer der Kulturen in hoher Schicht vom 30. Oktober werden am 3. November auf je ein Glas mit sterilisierter Milch verimpft und diese bei 37° C aufgestellt. Nach knapp 24 Stunden ist die Milch in allen drei Fällen geronnen. Beim Neigen fließt etwas wasserklares Serum unter dem Rahm hervor, das indessen nicht deutlich fadenziehend ist. Die Kulturen zeigen auch nach 33 Stunden dasselbe Verhalten und bleiben nun bis zum 13. November bei Zimmertemperatur stehen. An genanntem Tage werden sie auf Milchzuckeragar in hoher Schicht verarbeitet. Die dritte Verdünnung erweist sich in allen drei Fällen als sehr günstig, indem die betreffenden Röhren je 10—20 Kolonieen entwickelt haben, die bei 37° C schon im Alter von 2 Tagen ca. 1 mm Durchmesser zeigen. Die erst einige Tage später erfolgte Prüfung ergibt, daß alle diese Kolonieen hervorragend schön fadenziehend sind. Als einige derselben von neuem auf sterilisierte Milch übertragen wurden, gerann dieselbe bei 38° C nach Ablauf von 24 Stunden, aber fadenziehende Beschaffenheit ließ sich nicht erkennen. Sterilisierte Milch wird also bei Impfung mit einer Reinkultur unseres schleimbildenden Or-

ganismus nicht fadenziehend; das Schleimproduktionsvermögen geht aber durch die Uebertragung auf Milch nicht verloren, sondern äußert sich nach Rückimpfung auf einen hiefür günstigen Nährboden in ungeschwächter Weise.

Durch die letzterwähnten Versuche war eine Gewähr dafür geboten, daß es sich im vorliegenden Falle bei der Schleimbildung nicht um eine sehr labile Funktion handelte, die leicht verloren gehen kann und nur durch besondere Vorsichtsmaßregeln auf der Höhe ihrer Leistung zu erhalten ist. Aus diesem Grunde durfte auch erwartet werden, daß der Versuch, die in der Käserei H. beobachteten, abnormalen Eigenschaften der Milch mit Hilfe der Reinkultur in einer beliebigen Milch hervorzurufen, trotz des auffallenden Verhaltens des Organismus in sterilisierter Milch, gelingen werde.

Zur Ausführung dieses Versuches gelangte als Impfmaterial zur Verwendung eine 13 Tage alte Reinkultur des schleimbildenden Organismus in sterilisierter Milch und eine 5 Tage alte Milchzuckeragar-Stichkultur. Um aber frische, lebenskräftige Zellen der Rohmilch einzuverleiben, wurde von beiden Kulturen vorerst eine Ueberimpfung auf sterilisierte Milch vorgenommen und diese bei 37° C aufgestellt. Zur Zeit der Verwendung im Alter von 13 Stunden waren diese „Vorkulturen“ äußerlich noch nicht verändert. Von der zu infizierenden Rohmilch, die einige Stunden vorher gemolken worden war, kamen je 100 ccm in große Gärprobengläser und wurden mit je 1 ccm der Vorkultur gemischt. Es sind 3 Reihen aufgestellt worden, eine bei 30°, eine bei 38° und eine bei 45° C. Die letztere hohe Temperatur war gewählt worden mit Rücksicht auf die hohe Temperatur, der die Bakterien in der im Käsekessel befindlichen Milch und nachher in dem unter der Presse befindlichen Käse ausgesetzt sind. Folgende Tabelle enthält die Angaben über Anordnung und Ausfall dieses Versuchs.

Gärprobe-Temperatur	Ursprung des Impfmaterials	Verhalten der Milch nach 24 Stunden	Verhalten der Milch nach 33 Stunden
30° C	Milchzucker-Agarstich	Nur Rahm deutlich fadenziehend	Rahm nicht deutlich fadenziehend
	Sterilisierte Milch	Nur Rahm deutlich fadenziehend	Rahm deutlich, aber schwach fadenziehend
	Nicht geimpft	Rahm nicht deutlich fadenziehend	Rahm nicht deutlich fadenziehend
38° C	Milchzucker-Agarstich	Serum intensiv fadenziehend	Serum intensiv fadenziehend
	Sterilisierte Milch	Serum intensiv fadenziehend	Serum intensiv fadenziehend
	Nicht geimpft	Serum nicht fadenziehend Viel Gas	Serum nicht fadenziehend Viel Gas
45° C	Milchzucker-Agarstich	Serum nicht deutlich fadenziehend	Serum schwach fadenziehend
	Sterilisierte Milch	Serum deutlich fadenziehend	Serum schwach fadenziehend
	Nicht geimpft	Serum nicht deutlich fadenziehend	Serum schwach fadenziehend

Es hat sich also unter diesen Verhältnissen nur die Temperatur von 38° C als günstig für Entwickelung der schleimigen Beschaffenheit der Milch gezeigt, hier aber war ein voller Erfolg zu verzeichnen. Die beiden mit Reinkulturen geimpften und bei 38° C aufgestellten Milchproben boten genau das Bild der Gärproben, die ich seinerzeit in der Käserei H. hatte beobachten können. Als bemerkenswert ist noch der Umstand zu erwähnen, daß der Milchfehler schon nach 24 Stunden in ausgeprägter Weise vorhanden und 9 Stunden später eine Zunahme der Intensität nicht festzustellen war. Diese Tatsache steht im Widerspruch mit der mir gegenüber wiederholt geäußerten Ansicht der Praktiker, wonach die fadenziehende Beschaffenheit der Milch in der Gärprobe nach 24 Stunden noch nicht, sondern erst nach etwa 36 Stunden deutlich zu erkennen sei.

Dem obigen Versuche, der am 3. Dezember ausgeführt ist, ließ ich einen zweiten am 3. Februar 1904 folgen. Die verwendete Reinkultur war über 1 Monat alt. Da die bei dem letzten Versuch zur Anwendung gelangte Verimpfung eines Kubikzentimeters der Vorkultur als sehr reichlich bezeichnet werden darf und die Möglichkeit noch offen stand, daß die Einverleibung einer geringeren Zahl der schädlichen Bakterien vielleicht ein anderes Ergebnis gezeitigt hätte, so wurde diesmal die Impfung der Rohmilch mit 4 verschiedenen Mengen der Vorkultur ausgeführt. Die geringste dieser Mengen ist durch eine kleine Platinöse übertragen worden und mag etwa 1 mg betragen haben; es folgten dann eine große Oese, 0,5 ccm und 2 ccm des Impfmaterials. Die stärkste Dosis hat die schwächste also um ungefähr das 2000-fache bezüglich der Zahl der eingeimpften Bakterien übertroffen. Nichtsdestoweniger war ein Unterschied im Ausfall der Gärproben, von welchen eine Reihe bei 38° und eine Parallelreihe bei 30° C aufgestellt war, nicht zu bemerken. Nach 24 Stunden zeigten sämtliche bei 38° C aufgestellten Proben, mit Ausnahme der nicht geimpften Kontrollprobe, ausgeprägt schleimige Beschaffenheit in dem vom feinflockig-griesigen Kaseïngerinnsel namentlich im oberen Teil des Glases abgeschiedenen Serum. Ganz wie im früheren Versuche hatte die Kontrollprobe viel Gas entwickelt, während in den fadenziehend gewordenen Proben von Gasbildung nichts zu bemerken war. Die Schleimbildner haben also unter den Verhältnissen, wie sie in der Gärprobe herrschen, über die Gasbildner im Kampfe ums Dasein gesiegt. Diese Tatsache bildet einen Beleg für die früher schon an anderer Stelle geäußerte Ansicht, daß die Gasbildner, wenn sie in der Käserei störend auftreten, am besten durch ihre natürlichen Feinde, nämlich durch nicht gasbildende Milchsäurebakterien zu bekämpfen sind. Ein ganz anderes Bild boten die bei 30° C gestandenen Proben. Sämtliche, mit Einschluß der Kontrollprobe, sind gleichmäßig geronnen, ohne daß auch nur eine Spur Serum zur Abscheidung gelangt wäre. Dabei zeigt sich bei allen geimpften Proben die dem Koagulum aufliegende Rahmschicht deutlich, aber schwach fadenziehend, bei der Kontrollprobe ist dies

nicht der Fall. Der eingeimpfte Organismus hat sich also jedenfalls entwickelt, die fadenziehende Beschaffenheit des Rahms verrät seine Anwesenheit. Andererseits ist die schön gleichmäßige Gerinnung des Kaseïns offenbar auf die in der Milch schon vor der Impfung vorhandenen gewöhnlichen Milchsäurebakterien zurückzuführen, sonst wäre sie nicht in der Kontrollprobe genau wie in den übrigen Proben aufgetreten. Daß in der bei 38° C gehaltenen Reihe bei den geimpften Proben in allen Teilen unterhalb des Rahmes ausgesprochen schleimige Beschaffenheit vorhanden war, während bei 30° C trotz nachweislicher Entwickelung des schleimbildenden Organismus das gallertige Gerinnsel nicht eine Spur schleimiger Beschaffenheit zeigte, erkläre ich mir einfach dadurch, daß Trennung des Serums vom Gerinnsel eine Grundbedingung für die Schleimbildung ist, indem eben nur das freie, zu Beginn und während des Säuerungsprozesses ausgeschiedene Serum fadenziehend werden kann. Bei Gärprobentemperatur war diese Bedingung allem Anschein nach vorhanden, bei 30° C hingegen nicht. In letzterem Falle ist das Serum der Verschleimung nicht zugänglich gewesen, indem es mit dem als Gallerte gefällten Kaseïn eine innige Mischung bildete.

D. Die zur Ermittelung der Herkunft des Schädlings unternommenen Versuche.

Da nach dem Ausfall der in zuverlässiger Weise angestellten Gärproben vom 30. November der Stall des Lieferanten H. 3 in erster Linie als infiziert zu betrachten war, so sollte nun eine nächste Exkursion der Ausfindigmachung des eigentlichen Entwickelungsherdes des Schädlings im betreffenden Stalle dienen. Was die bei diesen Versuchen zu befolgende Methodik betrifft, so war der Weg insofern vorgezeichnet, als es sich bei dem quantitativen Nachweis der gesuchten Keime nur um eine Anwendung der Kultur in Milchzuckeragar (hohe Schicht) handeln konnte, die uns bisher so vorzügliche Dienste geleistet hatte. Außerdem stand in der „Gärprobe" noch ein Anreicherungsverfahren zur Verfügung, das allem Anschein nach im stande war, wenigstens qualitativ die Keime der gesuchten Art auch dann noch anzuzeigen, wo die direkte Aussaat in Zuckeragar infolge zu starken Ueberwiegens fremder Arten versagen mußte.

Diese Versuchsreihe ist am 6. November, also 8 Tage nach der Feststellung der stark schleimigen Beschaffenheit der Milch aus dem betreffenden Stalle, durch den Assistenten des Laboratoriums, Dr. M. Düggeli, an Ort und Stelle eingeleitet worden. Berücksichtigt wurden bei der Fahndung auf die schleimbildenden Bakterien die leeren Melkkessel vor dem Melken, die beiden für den Transport der Milch benutzten Tansen, sodann vor allem die Milch von jeder einzelnen der 13 Kühe während des abendlichen Melkens und auch eine Milchprobe aus einer der mit Milch gefüllten Tansen. Das leere Milchgeschirr wurde zu obigem Zwecke mit wenig sterilisiertem Wasser ausgespült und das letztere wieder in einem sterilen Glase gesammelt.

Bei der Probenahme ist in folgender Weise verfahren worden: Eine besondere äußerliche Reinigung der Euter ist unterblieben, hingegen hat der Melker vor Beginn der Arbeit und nach jedesmaligem Melken einer Kuh die Hände gründlich im Seifenwasser gewaschen. Von Dr. Düggeli wurde ein unter Watteverschluß im Laboratorium sterilisiertes, etwa 150 ccm fassendes Gärprobeglas jeweils bereit gehalten und erst nachdem der Melker schon ein ordentliches Quantum in den Kessel gemolken hatte, von den einzelnen Zitzen soviel bei möglichst geneigter Lage des Glases aufgefangen, daß sich eine Gesamtprobe von etwas mehr als 100 ccm ergab. Außer in der kurzen Zeit des Auffangens des Milchstrahls blieben die Gläser beständig mit Watte verschlossen. Die Wahrscheinlichkeit, daß die allfällig in der Milch nachweisbaren Keime der Schleimbildner aus der Stallluft in die Probegefäße gefallen sind, muß demnach als außerordentlich gering bezeichnet werden. Uebrigens wurde die Stallluft ebenfalls einer Prüfung unterworfen, in der Weise, daß flüssige Molkengelatine während 1 Minute und während 4 Minuten in offenen Petri-Schalen aufgestellt und nach der Infektion in Anaërobenröhren zum Erstarren gebracht wurde. Ein ähnlicher Versuch ist in der Käserei H. zur Ausführung gelangt, um die allfällige Anwesenheit des dort in den jungen Käsen so massenhaft vorhandenen Schädlings in der Käsereiluft festzustellen. Letzterer Versuch schien schon deshalb geboten, weil die Verarbeitung der Proben diesmal nicht im Laboratorium, sondern sofort nach der Entnahme in der Käserei stattfand, um Fehlerquellen, die aus einer Verschiebung in der Zusammensetzung der ursprünglichen Bakterienflora entstehen konnten, aus dem Wege zu gehen.

Der eine Teil der zu bewältigenden Arbeit bestand in der Herstellung der Milchzuckeragarkulturen in hoher Schicht. Es ist dabei, um die Durchführung des Verfahrens möglichst wenig zeitraubend zu gestalten, sowohl für das „Spülwasser" der leeren Milchgefäße wie für die Milchproben selber nur eine zweifache Verdünnung zur Anwendung gelangt. Die weniger starke wurde erzielt durch Vermischung von 2 großen Oesen des keimhaltigen Materials mit 10 ccm des verflüssigten Nährbodens, die zweite ebenfalls durch direkte Vermischnng mit nur einer kleinen Oese.

Der andere, auf eine den Umständen angemessene möglichst vollständige Ausnützung des gesammelten Versuchsmaterials gerichtete Teil der Arbeit war der einwandfreien Aufstellung der Gärproben gewidmet. Die kaum 2 Stunden früher in angegebener Weise von den 13 Kühen des Stalles genommenen Einzelproben hat Dr. Düggeli eigenhändig in das auf ca. 38° C erwärmte Wasserbad gestellt, nachdem der bisher als Verschluß benutzte Wattestopfen durch einen in sachgemäßer Weise sterilisierten Metalldeckel ersetzt worden war. Zu diesen 13 Proben gesellte sich die Probe der Mischmilch aus der gefüllten Tanse und die Probe einer normalen Milch aus einem Stalle, in welchem der Fehler nicht vorhanden war. Es war ein größeres Quantum solcher Milch beschafft worden, um das in der Gärprobe gebotene scharfe Unter-

scheidungsmittel auch auf die Bakterien der leeren Milchgefäße anwenden zu können. Zu diesem Zwecke ist das etwa 10 ccm betragende Spülwasser aus Tansen und Melkkesseln in je einem Gärprobenglas mit 100 ccm der normalen Milch übergossen und das Gemisch als Gärprobe zu den übrigen gestellt worden. Die Zahl der aufgestellten Proben betrug somit 19, entsprechend dem eben erwähnten, von 2 Tansen und 2 Melkkesseln stammenden Zuwachs. Die einzelnen Gläser waren nur mit Nummern bezeichnet und der Käser sowie der Präsident der Käsereigesellschaft wurden ersucht, nach 36-stündigem Verweilen der Proben bei 37—40° das Verhalten derselben zu prüfen und über den Befund Bericht zu erstatten.

Ich lasse diesen Bericht hier folgen unter Beifügung der aus Dr. Düggelis Notizen stammenden Angaben über den Ursprung des Materials.

Ausfall der 19 Gärproben vom 6. November 1903.

No.	Ursprung des Materials	Beschaffenheit der Milch nach 24 stdg. Aufenthalt bei 37—40° C.
1	Spülwasser aus blech. Milchkessel	zersetzt, leicht fadenziehend
2	„ „ emaill. „	ebenso
3	„ „ blech. Tanse	stark zersetzt, nicht fadenziehend
4	„ „ emaill. „	ebenso
5	Milch von Kuh Laubi	stark zersetzt, sehr stark fadenziehend
6	„ „ „ Dachs	stark getrieben, stark fadenziehend
7	„ „ „ Rothi	sehr stark zersetzt, sehr stark fadenziehend
8	„ „ „ Gems	normal
9	„ „ „ Spieß	griesig
10	„ „ „ Schimmel	stark zersetzt, sehr stark fadenziehend
11	„ „ „ Hirsch	zersetzt
12	„ „ „ Chlyne	stark zersetzt, sehr stark fadenziehend
13	„ „ „ Bär	stark getrieben, stark übelriechend
14	„ „ „ Lusti	stark getrieben, sehr stark fadenziehend
15	„ „ „ Rose	normal
16	„ „ „ Bickel	normal aussehend, fadenziehend
17	„ „ „ Jäger	leicht zersetzt
18	„ aus der Tanse	leicht zersetzt, fadenziehend
19	Angeblich fehlerfreie Milch aus einem anderen Stall	normal

Diese Tabelle gibt uns unzweideutigen Aufschluß über die Frage, woher die fadenziehenden Bakterien stammen, welche die Milch des betreffenden Stalles so gefährlich für den Käsereibetrieb machten. 8 von 13 Kühen haben den Schädling offenbar mit dem Gemelke ausgeschieden; derselbe muß also seinen Sitz in der Zitze oder, was nicht ausgeschlossen ist, vielleicht sogar im Drüsengebiete haben. In Hinsicht auf diese Tatsache ist das Gelingen oder Nichtgelingen der Nachweises unseres schleimbildenden Organismus im Milchgeschirr von geringer Bedeutung. Daß eine Milch, welche

schädliche Bakterien schon im Euterinneren birgt, eine Infektion der Melkgefäße, Tansen u. s. w. veranlassen kann, liegt auf der Hand. Ob die Infektion erfolgt oder nicht, hängt von verschiedenen Umständen ab, von der gründlichen Reinigung der betreffenden Gegenstände, von den Lebensbedingungen des Schädlings außerhalb seines gewohnten Mediums etc. Im vorliegenden Fall haben die beiden Melkkessel den Schädling sicher enthalten, in den beiden Tansen war er anscheinend nicht vorhanden.

Besonderes Interesse beanspruchen natürlich die mit den frischen Milchproben hergestellten Kulturen in hoher Schicht. Nach dem Ausfall der Gärproben war also die Milch von mindestens 8 Kühen schon beim Austritt aus dem Euter mit dem schleimbildenden Organismus behaftet gewesen und es schien sich nur noch um die Frage zu handeln, ob derselbe unter den in frischgemolkener Milch nie zu vermissenden Bakterien in geringerer oder größerer Zahl vorhanden sei. Zu unserer nicht geringen Enttäuschung mußten wir jedoch erfahren, daß die Verhältnisse anders lagen. Es ist nämlich nicht gelungen, in denjenigen Kulturen, die aus in der Gärprobe fadenziehend gewordenen Milchproben stammten, schleimige Kolonieen jener Art aufzufinden, wie sie für Kulturen aus fadenziehendem Käse oder aus fadenziehender Gärprobenmilch charakteristisch sind. Es würde zu weit führen, die diesbezüglichen Untersuchungen im einzelnen aufzuführen. Ich beschränke mich auf die Erwähnung, daß die Zahl der in verschiedenen Kulturen auf fadenziehende Beschaffenheit geprüften Kolonieen sich auf Hunderte beläuft und von diesen ist wiederum ein großer Teil im Hängetropfen beobachtet worden. Dabei hat sich herausgestellt, daß in jenen vereinzelten Fällen, wo deutliche, wenn auch nur kurze Schleimfäden mittels Platinnadel zu erzielen waren, es sich ausnahmslos um Kolonieen gehandelt hat, die aus typischen Kokken bestanden. Der gesuchte, auch in morphologischer Beziehung wohl charakterisierte Schleimproduzent wollte sich nicht finden lassen. Zwar kamen Kolonieen, die auf Grund ihres Aussehens und der sie zusammensetzenden zelligen Elemente als Bakt. Güntheri angesprochen werden mußten, nicht selten vor, doch es fehlte die fadenziehende Beschaffenheit. Ueberhaupt muß bezüglich der Zusammensetzung der bei diesen Versuchen beobachteten Bakterienflora auf das außerordentlich häufige Vorkommen von Kolonieen hingewiesen werden, die zum Typus der soeben erwähnten Bakterienart gehören. Wo bei diesem Typus die Neigung zur Kettenbildung ausgesprochen ist und damit im Zusammenhang die einzelnen Glieder kurze, gedrängte Form annehmen, entstehen allerdings Gebilde, die man auf den ersten Blick eher zu den wirklichen Streptokokken als zu den kurzstäbchenförmigen Milchsäurebakterien zählen wird. Aus solchen in Kettenform auftretenden Gebilden bestand ein großer Teil der Kolonieen gerade derjenigen Kulturen, welche fadenziehend gewordenen Milchproben entsprachen. So izt z. B. die Milchzuckeragarkultur in hoher Schicht von No. 5, welche in der Gärprobe „sehr stark fadenziehend“ geworden war, laut Versuchsprotokoll „anscheinend eine

Reinkultur eines streptokokkenähnlichen Organismus". Dieses und ähnliche Vorkommnisse einerseits, das vergebliche Fahnden nach dem bekannten Schleimbildner andererseits, dessen Anwesenheit in den betreffenden Milchen doch durch die Gärprobe erwiesen war, ließen den Gedanken aufkommen, es könnte am Ende das Schleimproduktionsvermögen erst nachdem es unter den Verhältnissen der Gärprobe zur Entfaltung gelangt ist, auch in den reinen Kolonieen im Milchzuckeragar sich äußern, nicht aber, wenn man den schleimbildenden Organismus direkt aus der frischen Milch isoliert. Mit anderen Worten: Aus den in den fraglichen Milchproben in großer Menge nachgewiesenen kettenbildenden Organismen entwickelte sich vielleicht unter den Bedingungen, wie sie in der Gärprobe herrschen, das auch Neigung zu Kettenbildung zeigende fadenziehende Bact. Güntheri.

Um diese Frage zu entscheiden, ist eine Reihe von Stämmen der betreffenden aus den Milchproben 5, 7 und 12 isolierten, nicht fadenziehenden Kettenbakterien auf kuhwarme Milch verimpft worden. Nach 12-stündigem Aufenthalte in der Gärprobe waren alle Milchen scheinbar unverändert, nach 24 Stunden hingegen hatte sich überall viel Serum abgeschieden, dasselbe war aber in keinem Falle fadenziehend geworden. Der vermutete, übrigens zum vornherein unwahrscheinliche Zusammenhang zwischen nicht fadenziehenden streptokokkenartigen Kettenorganismen und fadenziehenden Stäbchen aus fehlerhaftem Käse und fehlerhafter Gärprobenmilch bestand also nicht. Eine in gewissem Sinne unerwünschte Bestätigung dieses Ergebnisses wurde durch folgenden Befund geliefert.

Nachdem es trotz eifriger Bemühungen nicht gelungen war, aus den Kulturen in hoher Schicht, welche den fadenziehend gewordenen Milchproben entsprachen, den charakteristischen Schleimbildner aufzufinden, zeigte sich bei der Durchmusterung jener Kulturen, die sich auf nicht fadenziehend gewordene Milch bezogen, speziell bei No. 15 (laut mitgeteiltem Bericht „normal") eine stark fadenziehende Kolonie. Es ließen sich aus derselben unschwer 2 cm lange Fäden erhalten und das mikroskopische Bild war identisch mit dem früher bei den fadenziehenden Kolonieen aus der Käserei in H. beobachteten, nämlich: relativ große 1—1,5 μ breite, zum Teil in 4—8-gliederigen Ketten auftretende Güntheri-Formen. Dieser Befund, so unerwartet er übrigens kam, hat wenigstens dargetan, daß der gesuchte Schleimbildner in der frisch gemolkenen Milch durch die angewendete Methode mit Sicherheit erkannt und isoliert werden kann, vorausgesetzt, daß er in dem zur Kultur benutzten Milchquantum überhaupt vorhanden ist. Damit ist aber auch der noch in Erwägung gezogenen Annahme eines näheren Zusammenhanges zwischen dem Güntheri-ähnlichen Schleimbildner und dem nicht schleimigen streptokkenähnlichen Organismus jener Proben, in denen der Schädling mit Recht erwartet werden durfte, der Boden entzogen.

In der Luft des Stalles wie in derjenigen der Käserei konnte der Schleimbildner nicht gefunden werden. Die in den Kultur-

röhren zur Entwickelung gelangten Organismen bestanden vorherrschend aus wirklichen Kokken, zum geringen Teil aus Stäbchen, die als nicht Güntheri-ähnlich bezeichnet werden müssen. Vertreter der Güntheri-Gruppe wären wenigstens der Form nach als solche zu erkennen gewesen, wenn auch das Schleimbildungsvermögen bei der Kleinheit der Kolonieen in Molkengelatine nicht deutlich festzustellen ist und erst nach Uebertragung der Kultur auf Zuckeragar bei höherer Temperatur in typischer Weise zum Ausdruck gelangt.

Die Schlüsse, zu welchen uns die in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche geführt haben, sind folgende:

1) Die Milch aus dem Stalle des Lieferanten X. 3 mußte beim Aufstellen in der Gärprobe fadenziehend werden, denn mehr als die Hälfte der betreffenden Kühe lieferte ein Gemelk, das dieselbe Eigenschaft besaß.

2) Die Art der Fassung der Milchproben, wie auch der negativ verlaufene Versuch, den Schleimbildner in der Stallluft nachzuweisen, sprechen dafür, daß als Sitz desselben das Innere der Zitze, eventuell überhaupt das Euterinnere betrachtet werden darf.

3) Der schleimbildende Organismus bildet jedenfalls nur einen kleinen Bruchteil der in der frischgemolkenen Milch jener Kühe enthaltenen Bakterien, da ein Nachweis der ersteren durch direkte Austaat von etwa 10 mg Milch in ein geeignetes Kulturmedium in allen denjenigen Fällen nicht gelungen ist, in welchen die Gärprobe den Beweis für die Anwesenheit des Schädlings geleistet hat.

Für jenen vereinzelten Befund einer nach allen Richtungen typischen Kolonie des gesuchten Schleimbildners in der Kultur einer Milchprobe, welche laut mitgeteilter Tabelle zu den wenigen „normalen" gehörte, könnte folgende Erklärung gegeben werden: Die bloße Anwesenheit des Schleimbildners in einer Milch führt bei der Aufstellung derselben in der Gärprobe nicht unter allen Umständen zu lebhafter Vermehrung und entsprechender Schleimbildung, sondern der Fall ist denkbar, daß gewisse andere, ebenfalls von Anfang an in der frischen Milch befindliche Organismen die Oberhand gewinnen und den Schleimbildner nicht aufkommen lassen. Neben dieser gewiß berechtigten Annahme ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß die unter Hunderten von geprüften Kolonieen gefundene einzige typische Schleimbildnerkolonie wirklich einer Milchprobe entstammte, die in der Gärprobe fadenziehend war, daß aber bei der Notierung der Gärprobenresultate ein Irrtum bezw. eine Verwechslung unterlaufen ist.

E. Die Eigenschaften des in Reinkultur gewonnenen Schleimbildners.

Schon zu wiederholten Malen ist angedeutet worden, daß der in Frage stehende Organismus bezüglich seiner Gestalts- und Wachstumsverhältnisse ganz an Bact. Güntheri erinnert. Wenn auch in den mit fadenziehendem Material angelegten Zuckeragarkulturen „in hoher Schicht" vielfach nicht fadenziehende und faden-

ziehende Kolonieen von morphologisch gleicher Beschaffenheit nebeneinander vorhanden waren, so fand sich andererseits zwischen den beiden physiologischen Typen insofern eine scharfe Trennungslinie, als Uebergänge, also schwach oder zweifelhaft fadenziehende Kolonieen, aus denselben morphologischen Elementen bestehend, sozusagen nicht vorkamen. Entweder waren es typische, d. h. nicht fadenziehende Güntheri- oder dann ausgesprochen schleimig-fadenziehende Kolonieen, deren Stellung zum Bact. Güntheri durch weitere Versuche erst noch ermittelt werden mußte.

Bei der erstmaligen Isolierung haben die einzelnen Stämme nicht immer dasselbe Verhalten gezeigt. Die Differenzen erstrecken sich namentlich auf die Dimensionen der einzelnen Zellen, auf die Neigung, in kettenartigen Verbänden aufzutreten und Involutionsformen zu bilden. Durch Weiterzüchtung in Reinkulturen wurden die ursprünglichen Gegensätze mehr oder weniger ausgeglichen. Die folgende Beschreibung bezieht sich auf einen während der Zeit eines Vierteljahres auf sterilisierter Milch gezüchteten, 3mal überimpften Stamm, der als Durchschnittsbeispiel dienen möge.

1. Morphologie.

Die Angaben und Masse beziehen sich ausschließlich auf ungefärbte Präparate im Hängetropfen.

Aus 2 Tage alter Milchzuckeragarplatte bei 30° C: In den Oberflächenkolonieen fast ausschließlich Doppelstäbchen von Güntheri-Typus, die Zellen etwas spindelförmig, die freien Enden spitz zulaufend. Dimensionen des Doppelstäbchens 3 μ × 1 μ. Tiefenkolonie ähnlich, Dimension stärker schwankend, oft abnorm kleine Formen, ausnahmsweise größere als die bezeichneten.

Aus 20 Stunden alter Bouillon bei 37° C: Fast ausschließlich Doppelstäbchen, 4-gliederige Ketten selten. Zellen oft schmäler als 1 μ. Unverkennbarer Typus des Bact. Güntheri.

Aus 20 Stunden alter Dextrosebouillon bei 37° C: Sehr regelmäßiges Bild. Meist stark gestreckte Güntheri-Doppelstäbchen, diese oft 4 μ lang, aber selten über 1 μ dick, meist etwas weniger. Ketten selten und nur zu 4, höchstens zu 6 Gliedern.

Aus 5 Tage alter Dextrosebouillon (der vorigen nach Aufbewahrung von weiteren 3 Tagen bei Zimmertemperatur): Bild ähnlich wie vorher, aber 4-gliederige Ketten jetzt ziemlich häufig.

Bewegung ist in keinem Falle beobachtet worden.

2. Verhalten auf verschiedenen Nährböden.

Molkengelatineplatten bei Zimmertemperatur von 17—22° C: Die Kolonieen bleiben auffallend klein. Während mehrerer Tage scheint überhaupt kein Wachstum eintreten zu wollen. Nach 10 Tagen bei günstig besetzer Platte Durchmesser der Kolonieen 0,15—0,2 mm, für Oberflächen- wie für Tiefenkolonieen. Fadenziehende Beschaffenheit ist nicht nachweisbar.

Milchzuckeragarplatten bei 30° C: Nach 2 Tagen bei günstiger Besetzung Oberflächen- und Tiefenkolonieen etwa gleich groß, meist $^1/_8$—$^1/_4$ mm Durchmesser haltend. Tiefenkolonieen länglich-elliptisch oder spindelförmig glattrandig. Oberflächenkolonieen kreisrund, glattrandig, mäßig gewölbt, bläulichgrau, glänzend. Bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung Struktur feinkörnig, Randzone homogen. Bei den größeren, namentlich oberflächlichen Kolonieen ist fadenziehende Beschaffenheit deutlich nachweisbar. Geruch der Platten ausgesprochen säuerlich, nicht angenehm.

Milchzucker- oder Molkenagarkulturen „in hoher Schicht“. Unter günstigen Verdünnungsverhältnissen bei 30 oder 37° C in 1—2 Tagen kugelige oder linsenförmige Kolonieen von $^1/_2$— 1 mm Durchmesser. Dieselben sind von einer trüben Zone umgeben, welche im Laufe der Zeit an Intensität

gewinnt. Bei geeigneter Spaltung des Nährbodens, wobei die Spaltungslinie eine Kolonie zu treffen hat, bleiben die getrennten Teile der letzteren durch einen $^{1}/_{2}$—1 cm langen Schleimstrang verbunden. Mit der Nadel lassen sich aus solchen Kolonieen Fäden von mitunter mehreren Centimetern Länge ziehen.

Molkenagar-Stichkultur. Nach 20 Stunden bei 37° C: Wachstum in der ganzen Länge des Stichkanals sehr kräftig in Form eines dicken, schmutzig weissen, einen Stich ins Rotgelbe zeigenden Fadens. Derselbe ist von einer etwa 2 mm breiten, trüben Mantelzone umgeben. An der Oberfläche des Nährbodens keine Ausbreitung der Kultur. Nach 2 × 24 Stunden ist die ganze Kultur undurchsichtig trübe, indem sich die erwähnte Zone bis zur Glaswand erstreckt.

Molkenagar-Strichkultur. Nach 20 Stunden bei 37° C: Ansehnlicher Belag aus graulichweißen, flachen, tröpfchenartigen Kolonieen zusammengesetzt. Im sogenannten Kondenswasser flockige Masse mit Stich ins Rostgelbe. Flüssigkeit etwas fadenziehend. Nach 24 Stunden ist der Belag etwas kräftiger; unter demselben ist der Nährboden stark getrübt.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur. Nach 20 Stunden bei 37° C: Nährboden in der ganzen Höhe durchaus gleichmäßig bewachsen und undurchsichtig-trübe. Keine Gasblasen.

Kartoffel. Nach 20 und auch nach 44 Stunden bei 37° C kein sichtbares Wachstum.

Gewöhnliche Nährbouillon. Nach 20 Stunden bei 37° C gleichmäßige, schwache Trübung ohne Deckenbildung; nach 44 Stunden ist die Trübung immer noch schwach und die Bouillon nicht deutlich fadenziehend.

Zweiproz. Dextrosebouillon. Nach 20 Stunden bei 37° C ist die Flüssigkeit sehr stark und gleichmäßig getrübt undurchsichtig, etwas fadenziehend. Auch nach 3 Tagen ist die fadenziehende Eigenschaft deutlich, wenn auch schwach, vorhanden.

Sterilisierte Milch bei 30° C: Nach 20 Stunden scheinbar unverändert, nach 44 Stunden nicht deutlich geronnen, nach weiteren 24 Stunden fest. Kein Gas und keine Serumabscheidung. Bei 37° C: Nach 20 Stunden beginnende Gerinnung, nach 44 Stunden festes Coagulum. Kein Gas; unter dem Rahm etwas Serum, das nicht fadenziehend ist. Angenehm säuerlicher Geruch.

Sofort nach erfolgter Gerinnung titrierte Kulturen von 20 ccm Inhalt erfordern zur Neutralisierung ungefähr 10 ccm einer $\frac{n}{10}$ Lauge.

Rohe, frisch gemolkene Milch. Ueberträgt man eine Platinöse voll Material aus einer jungen eventuell noch nicht geronnenen Milchreinkultur auf eine Probe frisch gemolkene Milch und stellt dann die letztere bei Bruttemperatur auf, so zeigt das ausgeschiedene Serum gewöhnlich nach 24, mindestens nach 36 Stunden ausgesprochen fadenziehende Beschaffenheit.

F. Die verwandtschaftliche Stellung des Schleimbildners gegenüber bekannten Arten.

Die Zahl der in der Literatur erwähnten Bakterienarten, die mit Schleimproduktionsvermögen ausgestattet sind, ist nicht gering. Berücksichtigung sollen in unserem Falle indessen nur diejenigen finden, welche die Milch schleimig machen und unter diesen können die pathogenen Arten, welche die Milch schon im Euter in entsprechender Weise verändern, zum voraus ausgeschlossen werden.

Bei einem näheren Vergleich mit denjenigen nicht pathogenen Arten, welche gesunde Milch fadenziehend machen[1]), fallen zum vornherein jene außer Betracht, die in morphologischer und kultu-

1) Ausführliche Literaturübersicht bei G. König und A. Spieckermann. (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Bd. V. 1902. p. 897.)

reller Beziehung nicht dem Bact. Güntheri nahestehen, also z. B. Micrococcus Freudenreichi Guill und Bacillus lactis viscosus Adametz. Der erstere darf als der für die Schweiz bisher praktisch fast ausschließlich in Frage kommende Erreger von fadenziehender Milch bezw. fadenziehendem Rahm bezeichnet werden, während der Bacillus lactis viscosus von Adametz seiner Zeit (1891) ebenfalls in der Schweiz als Milchschädling erkannt, seither aber hier nicht mehr beobachtet worden ist. Neuerdings hat A. Ward[1]) Mitteilung über das schädigende Auftreten dieses Organismus in amerikanischen Meiereien gemacht.

Bei der Frage, ob überhaupt schon Bakterien aus dem Formenkreis des Bact. Güntheri in der Eigenschaft von Schleimproduzenten als Schädlinge beobachtet worden sind, dürfen wir die Angaben über schleimbildende Kokken nicht unberücksichtigt lassen, denn es stehen wenigstens die Streptokokken, und unter diesen speziell der Streptococcus lanceolatus den zu Kettenbildung neigenden Rassen des Bact. Güntheri so nahe, daß eine scharfe Trennung zur Zeit unmöglich erscheint. Kruse[2]) hat denn auch den Vorschlag gemacht, den Formentypus des Erregers der spontanen Milchsäuregärung nicht vom Stäbchen, sondern von der Kugel abzuleiten und mit dem Namen Streptococcus lacticus zu belegen. Um Streptokokken scheint es sich nun bei dem von Schmidt-Mülheim[3]) erwähnten Fall von schleimiger Milch gehandelt zu haben, doch fällt, da der betreffende Organismus nicht in Reinkultur erhalten worden ist, ein Identifizierungsversuch dahin. Der Micrococcus von Schütz und Ratz[4]) ist nicht genügend beschrieben, um seine Stellung gegenüber Verwandten sicher erkennen zu können und zudem handelte es sich im betreffenden Falle um das Fadenziehendwerden von Rahm bei relativ niedriger Temperatur. Damit sind die Fälle von schädlicher Wirkung durch schleimbildende Bakterien, die den von mir ausführlich beschriebenen allenfalls entsprechen könnten, erschöpft und es erübrigt nur noch ein Hinweis auf gewisse in Holland und Skandinavien absichtlich erzeugte und gepflegte schleimige Molkereiprodukte, die sogenannte lange Wei und die Tätmjölk oder Zähmilch.

Als lange Wei bezeichnet man in Holland außerordentlich stark schleimige Molken, die bei der Fabrikation des Edamer Käses Verwendung finden und die Erzielung eines guten, gleichmäßigen Produktes sichern sollen. Als Ursache der eigentümlichen Beschaffenheit dieser Molken sind Bakterien anzusehen, die von Weigmann[5]) und später von Goethart[6]) näher studiert worden sind. Scholl hat sie mit dem Namen Streptococcus hollandicus belegt. Bei direkter mikroskopischer Untersuchung von typischer langer Wei sieht man in der Flüssigkeit zahlreiche

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 495.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 737.
3) Landw. Versuchsstation. Bd. XXVIII. 1883. p. 91.
4) Nach König und Spieckermann, l. c. p. 902.
5 Milchzeitung. 1889. No. 50. p. 982.
6) Ausführliches Referat in Kochs Jahresbericht. 1897. p. 194.

Pilzflöckchen suspendiert, die bei starker Vergrößerung sich aus einem Knäuel verschlungener Zellkettchen zusammengesetzt erweisen, welche eher als Güntheri-Formen denn als Streptokokken anzusprechen sind[1]) Reinkulturen in Zuckerbouillon lassen hingegen den Organismus wiederum als unzweifelhaften Streptococcus erscheinen. Durch Ueberimpfung von Reinkulturen des Streptococcus hollandicus auf sterilisierte Molken ist es mir zuweilen gelungen, eine der Original-Wei ganz entsprechende Flüssigkeit zu erhalten, deren schleimige Beschaffenheit jedoch nach kurzer Zeit wieder verloren ging. Der Versuch war indessen nur bei Zimmertemperatur von Erfolg begleitet, nicht aber bei 30° und bei 37° C mußte die Entwickelung des Organismus überhaupt als eine sehr kümmerliche bezeichnet werden.

Die Tätmjölk ist eine sehr zähe, stark fadenziehende, saure Milch, die im Norden, namentlich im Sommer, als Erfrischungsmittel genossen wird. Als die Eigenschaften dieser Milch bedingende Bakterien hat Troili-Petersson[2]) ein Stäbchen (Bacterium lactis longi) gefunden, das sich von dem gewöhnlichen Erreger der spontanen Milchgerinnung, das ist dem Bacterium Güntheri, durch nichts unterscheidet, als durch die mit der Säuerung einhergehende Schleimproduktion. Aehnliches läßt sich von unserem in der Käserei in H. gefundenen Schleimbildner sagen. Derselbe entspricht in allen seinen Merkmalen dem Bact. Güntheri, unterscheidet sich von letzterem aber durch das ausgesprochene Schleimbildungsvermögen. Als weitere Unterscheidungspunkte können noch geltend gemacht werden, das äußerst kümmerliche Wachstum auf Molkengelatineplatten und das bei Bluttemperatur liegende Wachstumsoptimum. Doch ist hierauf kein besonderes Gewicht zu legen, denn es hat bis jetzt noch niemand eine Unterscheidung der Milchsäurebakterien nach ihrem Temperaturoptimum versucht, und Kruse (l. c.) hat noch kürzlich darauf aufmerksam gemacht, daß bei den aus saurer Milch erhaltenen Stämmen von Milchsäurebakterien sich neben normalen, kräftige Kolonieen bildenden, solche mit ganz kümmerlichem Gelatinewachstum finden lassen. Es verbleibt somit als durchgreifendes Trennungsmerkmal unseres Schädlings gegenüber dem Bact. Güntheri nur das Schleimbildungsvermögen. Damit ist aber auch schon das Verwandtschaftsverhältnis angedeutet, in welchem unser Organismus zum Bact. lactis longi steht. Wie dort, so handelt es sich hier um eine schleimbildende bezw. Milch fadenziehend machende Parallelform des Bact. Güntheri. So eng nun diese beiden Schleimbildner durch ihre gemeinschaftliche Beziehung zum Bact. Güntheri untereinander verbunden sind, so scheint es anderseits doch unstatthaft, die beiden ohne weiteres als identisch zu erklären. Die Unterschiede

1) Die für meine Untersuchungen benutzte Probe „lange Wei" stammte aus einem holländischen Käsereibetriebe und ist mir in liebenswürdiger Weise durch Herrn Dr. Boekhout, Bakteriolog an der landwirtschaftlichen Reichsversuchsstation in Hoorn, übermittelt worden.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXII. 1899. p. 361.

sind allerdings nur rein physiologischer Natur und finden ihren Ausdruck darin, daß der Organismus der Zähmilch sein Wachstumsoptimum bei relativ niedriger Temperatur, der in H. gefundene Schleimbildner hingegen bei Bluttemperatur hat, ferner in den ganz verschiedenen Erscheinungen, welche bei der Einwirkung der beiden Organismen unter den für ihre Entwickelung günstigen Temperaturen in frischer Milch hervorgerufen werden. In diesen Unterschieden liegt es begründet, daß das Bact. lactis longi niemals zu dem eingangs beschriebenen Milch- und Käsefehler Veranlassung geben könnte, während umgekehrt Versuche, mit Hilfe des aus H. stammenden Schleimbildners Zähmilch mit charakteristischen Eigenschaften zu erzielen, zum vornherein als nutzlos zu bezeichnen sind.

G. Schlußsätze.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit möchte ich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Unter den eine praktische Bedeutung beanspruchenden Fällen von fadenziehender Milch stellt der beschriebene einen neuen, bis jetzt nicht näher bekannten Typus vor.

2) Dieser Typus ist dadurch charakterisiert, daß infolge der Tätigkeit von Bakterien, die sich morphologisch und kulturell vom Bakt. Güntheri nicht unterscheiden lassen, die bei 37—40° C aufgestellte Milch unter mehr oder weniger reichlicher Serumabscheidung stark fadenziehend wird.

3) Ein entsprechender Vorgang spielt sich, begünstigt durch die hohe Wärme, im jungen, noch unter der Presse befindlichen Emmentaler Käse ab, wenn die verarbeitete Milch die erwähnten fadenziehenden Bakterien enthielt. Die im Käse schleimig gewordenen Molken lassen sich nur schwierig auspressen, und dieser Umstand bedingt speziell eine zu Rißbildung neigende Rinde, wie überhaupt eine fehlerhafte Beschaffenheit des gereiften Käses.

4) Die betreffenden schleimbildenden Bakterien sind schon in der frischgemolkenen Milch enthalten, und zwar auch dann, wenn dieselbe unter möglichster Verhütung von Luftinfektion direkt in sterile Gefäße aufgefangen wird. Als Sitz des Schleimbildners darf also wohl das Euterinnere, wenigstens der Zitzenkanal, betrachtet werden.

5) Außer in Milch und Käse und den damit in Berührung gekommenen Gegenständen ist ein Schleimbildner mit den angeführten Eigenschaften bis jetzt nicht gefunden worden.

6) Nahe verwandt mit dem in Frage stehenden Verschleimungsprozeß ist hinsichtlich des Erregers

jener Vorgang, welcher zur Entstehung der schwedischen „Zähmilch" (Tätmjölk) führt. Auch hier ist die Verschleimung auf eine Bakterienart zurückzuführen, die in morphologischer und kultureller Beziehung von Bact. Güntheri nicht getrennt werden kann.

Zürich, im März 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen.

Von **L. A. Rogers,**

Bio-Chemic Laboratory, Bureau of Animal Industry, U. S. Dept. Agriculture.

Einleitung.

Butter in Büchsen zu konservieren für den Gebrauch in tropischen und anderen Ländern, wo frische Butter nicht zu haben ist, hat sich in den Vereinigten Staaten zu einer dauernden Industrie herangebildet. In New York wird nur eine verhältnismäßig kleine Menge Butter von geringerer Güte in Büchsen verpackt und nach gewissen Teilen der west-indischen Inseln und Süd-Amerikas versandt, aber im mittleren Westen und hauptsächlich in den Staaten der westlichen Küsten werden große Quantitäten konserviert, um nach West-Indien, den Philippinen, dem asiatischen Festlande und Alaska versandt zu werden.

In den wärmeren Ländern ist es selten der Fall, daß sich diese Butter nicht hält, obschon ihre dauernde Haltbarkeit öfters von den Produzenten behauptet wird. Sie verändert sich im Gegenteil langsam und verliert mit der Zeit gewöhnlich ihren Wert als Konsumware ganz. Von einer Anzahl von der Abteilung für Milchwirtschaft des Ackerbaudepartements gesammelter Büchsen mit eingemachter Butter waren alle mehr oder weniger in Zersetzung übergegangen. Der Geschmack dieser Proben war verschieden. In einigen hatte sich ein unangenehmer, scharfer Nachgeschmack entwickelt, während andere einen strengen, widrigen Geschmack, der fast wirkliche Ranzigkeit verriet, besaßen. In den letztbenannten Fällen konnte man nicht von gewöhnlicher Ranzigkeit sprechen, aber der Geschmack war dem, der von amerikanischen Butterexperten als „fischiger Geschmack" (fishy flavor) bezeichnet wird, sehr ähnlich. Die Mehrzahl dieser Butterproben war weich und klebrig und einige waren bei gewöhnlicher Temperatur dickflüssig. Der Geschmack ließ eher auf eine Zersetzung der Fette als der Proteinsubstanzen schließen.

Die in einigen dieser Proben bestimmte Säurezahl war in keinem Falle höher als 7,0 und in manchen viel niedriger. Zur Bestimmung der Säurezahl bediente man sich der von der Gesellschaft offizieller Agrikultur-Chemiker vorgeschriebenen Methode.

In normal frischer Butter zeigt diese Bestimmungsmethode eine Säurezahl von 0,5—0,8. Die Vermehrung der Säuremenge war in dieser Butter gering, wenn man das Alter der Proben und die Höhe der Säurezahl, die gewöhnlich in ranziger Butter vorgefunden wird, in Betracht zieht, aber sie war doch genügend, um einen sehr bemerkbaren Unterschied im Geschmacke hervorzurufen.

Die Ursachen dieser Veränderungen.

a. Physikalische und chemische Faktoren.

Frühere Forscher auf diesem Gebiete haben der Oxydation, der Wärme, der Feuchtigkeit und dem Lichte die in Fetten und Oelen vorkommenden Zersetzungen zugeschrieben. Berthelot (1) fand, daß Fett sich spaltete, wenn es mit Wasser einer hohen Temperatur ausgesetzt wurde, und kam dadurch zu der Meinung, daß dieser Prozeß bei gewöhnlicher Temperatur langsam vor sich ginge. Browne (2) gibt Luft, Licht und Wärme als die höchsttätigen Faktoren bei der Zersetzung des Butterfettes an, behauptet aber, daß die Zersetzung langsam vorwärts schreiten kann, auch wenn ein oder sogar zwei dieser Faktoren eliminiert worden sind. Ritsert (3) fand, daß Fett in zugesiegelten Büchsen sowohl im Dunkeln wie im Sonnenlichte unverändert blieb, während Proben, die zu gleicher Zeit der Luft und dem Sonnenlichte ausgesetzt waren, Sauerstoff absorbierten und ranzig wurden. Jensen (4) zeigte, daß das Einwirken physikalischer und chemischer Faktoren nicht hinreichend ist, um die in gewöhnlicher Butter vorkommenden Veränderungen zu erklären. Die von ihm dem Sonnenlichte und der Luft ausgesetzte Butter erlitt eine deutliche Oxydation, während nur eine schwache hydrolytische Spaltung vorkam. Er kommt dadurch zu der Ueberzeugung, daß das Licht wirkungslos ist, daß die Luft nur soweit wirkt, als sie aërobe Organismen mit Sauerstoff versieht, und daß diese die wirkliche Ursache der Veränderungen in der Butter sind.

Bei meiner Arbeit fand ich, daß aus erhitztem Rahm hergestellte Butter eine unbestimmte Zeitlang unverändert blieb. Dieses war auch gewöhnlich der Fall in mit oder ohne Antiseptika konservierter Butter. Eine Probe, die bis auf 95—100° C erhitzt worden war, blieb unverändert, auch wenn dieselbe während mehreren Wochen einer Temperatur von 23° C ausgesetzt war. Es ist demnach anzunehmen, daß das Steigen der Säurezahl in Büchsen verpackter Butter entweder fettspaltenden oder fakultativ anaëroben Mikroorganismen oder Enzymen, die durch eine verhältnismäßig niedere Temperatur zerstörbar sind, und nicht der Wirkung von Sauerstoff, Feuchtigkeit und Wärme zuzuschreiben ist.

b. Direkte Wirkung der Mikroorganismen.

Es ist genau bewiesen worden, daß gewisse Mikroorganismen und hauptsächlich die Schimmelpilze die Fähigkeit besitzen, das Fett zu spalten und dabei Säure frei zu machen (Laxa (5),

Schreiber (6), König, Spieckermann und Bremer (7) und andere).

Jensen (4) zeigt in seinen sehr eingehenden Untersuchungen über die Ranzigkeit der Butter, daß durch die Tätigkeit gewisser aërobischer Formen, wie Bacillus fluorescens liquefaciens, Oidium lactis und Cladosporium butyri, die Butter ranzig wird. Diese Arbeit harmonisiert die nichtübereinstimmenden Ansichten einiger der früheren Forscher und gibt eine sehr zufriedenstellende Erklärung des Ranzigwerdens der in kleinen, mit einem verhältnismäßig großen Teile der Oberfläche der Luft ausgesetzten Paketen verpackten Butter. Dennoch können seine Folgerungen kaum als auf amerikanische Butter anwendbar betrachtet werden, weil eben diese meistens in größeren Fässern verpackt wird, in denen nur ein kleiner Teil der Oberfläche der verpackten Butter der Luft ausgesetzt ist. Es ist gewiß, daß durch diese Folgerungen die bei in Blechbüchsen verpackter Butter (anned butter) vorkommenden Veränderungen nicht erklärt werden. Diese Butter wird gewöhnlich ganz frisch in 1—2—3 Pfund haltende, ganz gefüllte und hermetisch geschlossene Blechbüchsen verpackt. Die sehr kleine vorhandene Quantität Sauerstoff würde zweifellos von der großen Zahl der Milchsäurefermente, die sich normal in frischer Butter vorfindet, schnell verbraucht und durch diesen Umstand die Existenz der von Jensen genannten aëroben Mikroorganismen unmöglich gemacht werden.

Eine Anzahl Büchsen mit Butter, die in der Abteilung für Milchwirtschaft aufbewahrt worden war, wurde im Anfange dieser Arbeit bakteriologisch untersucht. In aërobischer sowie anaërobischer Gelatinekultur entwickelten sich nur sehr wenige Kolonieen von Bakterien, während Schimmelpilze und verwandte Gruppen so wenig erschienen, daß ihre Anwesenheit als von einer Infektion herrührend betrachtet werden konnte. Ein großer Teil der vorkommenden Bakterien war durch widerstandsfähige, sporenbildende, öfters der verflüssigenden Heubacillusgruppe angehörigen Arten vertreten.

Es würde auch auffallend gewesen sein, wenn man das Alter und den Säuregehalt in Betracht zieht, andere Arten Bakterien in diesen Butterproben gefunden hätte. Wenn irgend welche Mikroorganismen diese Veränderungen in der Butter verursachen, dann sind dieselben nur entdeckbar,. wenn die Butter noch verhältnismäßig frisch ist. Einige Portionen von noch nicht sehr lange in Büchsen verpackter Butter von verschiedener Herkunft wurden von Zeit zu Zeit bakteriologisch untersucht. Für jede einzelne Bestimmung wurde eine Büchse geöffnet. Eine aus 12 Büchsen bestehende Probe der gleichen, aus derselben Portion Rahm bereiteten Butter wurde bald nach dem Verpacken zum Laboratorium gesandt, und die Resultate der mit ihr unternommenen bakteriologischen Untersuchungen können als typisch für die ganze Versuchsserie angesehen werden. Diese Butter war 7 Tage alt, als sie im Laboratorium ankam, und nachher wurden die noch übrigen Büchsen in einem großen Brütschranke einer konstanten Temperatur von 23° C

ausgesetzt. Das Verhalten der Butter und die Säurezahl einer jeden Büchse zur Zeit der Oeffnung derselben ist in Tabelle I angegeben:

Tabelle I.
Veränderungsstadien der in Büchsen verpackten Butter.

Büchsen-No.	Alter in Tagen	Bemerkungen	Säurezahl
22	7	Geschmack rein, Konsistenz gut	0,4
23	10	Ein schon bemerkbarer Nachgeschmack	0,4
24	14	Nachgeschmack schärfer	0,4
25	21	Noch nicht ganz verdorben	0,8
26	38	Geschmack „fischig" (fishy flavor)	1,1
27	114	Geschmack unangenehmer, Konsistenz talgig	2,0
28	251	Geschmack deutlich „fischig", Geruch streng	3,4

Der Geschmack in dieser Serie von Proben veränderte sich allmählich und war am 3. Tage schon entschieden vom normalen abgewichen. Am 21. Tage, wo die Säurezahl bis auf 3,4 herangewachsen, war der Geschmack so unangenehm, daß die Butter ungenießbar geworden war. Die Steigerung der Säurezahl stimmte so genau mit der Geschmacksveränderung in allen den untersuchten Proben überein, daß dieselbe als ein Maß der vorsichgehenden Veränderungen im Butterfette diente und sich besser zu diesem Zwecke eignete, als der ungewissere und unbestimmtere Geschmackssinn.

Von jeder Büchse wurden aërobische und anaërobische Gelatine- und Molkengelatineplatten geimpft. In der Bestimmung von Hefen und dergleichen Organismen wurde, um die Bakterien zu töten, ohne die Entwickelung der Hefenkolonieen zu verhinhindern, Weinsäure der Gelatine in genügenden Mengen zugesetzt. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Tabelle II vorgeführt:

Tabelle II.
Keimzahl von Bakterien und Hefen per Gramm Butter.

Büchsen-No.	Alter in Tagen	Gesamtkeimzahl	Milchsäurefermente	Verflüssigende Bakterien	Torula-Hefen
22	7	362 000	318 000	21 000	23 000
23	10	194 100	173 500	3 300	17 300
24	14	125 000	122 300	2 400	300
25	21	23 600	23 040	—	560
27	114	200	0	150	0
28	251	Nur wenige verflüssigende Keime.			

Man kann annehmen, daß die Keimzahl der Bakterien schon zur Zeit der ersten Bestimmung ihren Kulminationspunkt überschritten. hatte, denn im Vergleich ist die gefundene Gesamtkeimzahl schon klein. Wie es in gewöhnlicher, nicht verpackter Butter vorkommt, so bestanden auch hier anfänglich 99 Proz. der Gesamtkeimzahl aus Milchsäurefermenten, aber ihre Zahl verminderte sich so schnell, daß beim Alter von 114 Tagen diese Organismen ganz verschwun-

den waren. Die Zahl der verflüssigenden Bakterien war auch vergleichsweise gering und erlitt auch eine gewisse Verminderung, aber durch den hohen Prozentsatz sporenbildender Formen wurde die Anwesenheitsdauer dieses Typus verlängert.

Neben den drei in der Tabelle angegebenen Bakteriengruppen war noch eine kleine, wechselnde Zahl von nicht tätigen Bakterien vorhanden. Diese konnten nicht genau bestimmt werden, weil die Kolonieen von den Kolonieen der anderen Gruppen, hauptsächlich der Milchsäurefermente, nicht gut zu unterscheiden waren. Hier und da kamen auch Kolonieen vom Oidium-Typus vor, aber ihre Zahl war so unbedeutend, daß dieselben nicht in Betracht gezogen wurden.

Bei der Untersuchung aller Proben frischer Butter wurde eine große Anzahl von Kulturen einer jeden Bakteriengruppe angelegt, um eine Form zu bestimmen, der man die Veränderungen in der Butter zuschreiben könnte, aber es stellte sich heraus, daß ein großer Teil derselben nur langsamtätig säurebildende Formen waren, und daß sich keine Form mit der Fähigkeit, das Butterfett zu zersetzen, vorfand.

Eine Eigentümlichkeit der Flora dieser frischen, verpackten Butter war die ziemlich starke Vertretung der Hefen aus der Torula-Gruppe [1]). Der negative Charakter dieser Gruppe von Organismen macht es schwierig, zu bestimmen, ob ein oder mehrere Species vorhanden sind, aber in der Anzahl der in Tabelle II beschriebenen Proben sowohl wie in einer zweiten Anzahl ähnlicher Proben, die aus derselben Butterfabrik herrührte, schien nur eine Species anwesend zu sein. Diese charakterisierte sich durch kleine elliptische Zellen und hatte gemeinsam mit anderen Hefen dieser Gruppe die Tendenz, auf Gelatine kleine, runde, weiße oder strohgelbe Kolonieen zu bilden, die sich nur, dadurch, daß sie etwas größer sind, von den Kolonieen der Milchsäurefermente unterscheiden lassen. Die in dieser Butter am häufigsten vorkommende Art von Torula-Hefe wurde als T bezeichnet. Wie die anderen, nicht sporenbildenden Formen, so verminderte sich auch diese recht schnell und war bald ganz verschwunden. Torula-Hefen wurden in allen diesen Butterproben gefunden und die vorhandene Zahl derselben hing meistens von dem Alter der Butter ab. Die Form T wurde nur aus den zwei oben genannten Portionen Butter isoliert, während andere Torula-Hefen, morphologisch verschieden von dieser Form, aber auch wie diese fettspaltend, einer Anzahl von Proben entnommen wurden. Es ist anzunehmen, daß der betreffende Organismus einen in der Butter wahrscheinlich recht häufig vorkommenden Typus vorstellt.

Wenn man die Resultate der bakteriologischen Untersuchungen, wie sie Tabelle II darstellt, in Betracht zieht, scheint es klar, daß man das in der Butter existierende mikroskopische Leben nicht als die

---

1) In Betracht der gegenwärtigen noch nicht fest entschiedenen Stellung dieser Gruppe anderen Pflanzen gegenüber, ist es ratsam, anzugeben, daß man hier der von Hansen (8) ausgearbeiteten Klassifikation gefolgt ist.

direkte Ursache der Veränderungen im Säuregrade und im Geschmacke ansehen kann.

In fast allen untersuchten Proben war keine Veränderung im Säuregehalt bemerkbar, bis sich die Bakterien und die Hefen auf unbedeutende Zahlen vermindert hatten. Von den längere Zeit tätigen Bakterien war nur die Milchsäuregruppe zahlreich genug vertreten, um als eine mögliche Ursache der Veränderungen betrachtet werden zu können, aber bisher ist noch kein Glied dieser Gruppe als fettspaltend bezeichnet worden und von den ihr angehörigen und aus der untersuchten Butter isolierten Bakterien war keine im stande, den Säuregrad des Butterfettes zu erhöhen.

Die Torula-Hefe T, wie nachher ausführlicher besprochen werden wird, hatte die Fähigkeit, Fett langsam zu zersetzen. Wenn wir jetzt auch annehmen, daß diese Hefe sich immer recht zahlreich in frisch verpackter Butter befindet, und daß dieselbe durch den direkten Stoffwechsel ihrer Zellen im stande ist, Fettsäuren frei zu machen, kann man doch die wirklichen Veränderungen hiermit nicht erklären. Wenn die Hefen ganz verschwunden sind und die Zahl der Bakterien so reduziert ist, daß überhaupt nur noch die sporenbildenden Arten existieren, geht doch die Vermehrung der Säuremenge, von der entsprechenden Veränderung in Aroma, Geschmack und Konsistenz begleitet, langsam und ununterbrochen weiter.

Dies bringt uns zur Erörterung der lipolytischen oder fettspaltenden Enzyme. Es ist eigentlich schwer verständlich, wie eine Pflanzenzelle von einer so vollständig unlösbaren und nicht diffusionsfähigen Substanz, wie Fett, Gebrauch machen kann, ohne daß dieselbe zuerst durch die Wirkung eines Enzyms in lösbare Bestandteile gebracht worden ist.

Lipolytische Enzyme.

Es ist möglich, daß sich in der verpackten Butter ein Enzym mit schwacher hydrolytischer Kraft vorfand. Die Anwesenheit eines solchen Enzyms würde eine sehr zufriedenstellende Erklärung der langsam vor sich schreitenden Veränderungen, nachdem die Butter so zusagen steril geworden ist, geben.

Sollte diese Hypothese richtig sein, dann würde Butter, in der das Enzym durch die nötige Temperatur zerstört worden wäre, unverändert bleiben, während in einer Butter, in der die Tätigkeit der Mikroorganismen durch ein Antiseptikum aufgehoben worden wäre, die Zersetzung normal vor sich gehen oder doch nur wenig zurückgehalten würde. Eine Serie von Untersuchungen, um die Gegenwart lipolytischer Enzyme in verpackter Butter zu bestimmen, wurde unternommen und die erzielten Resultate sind in Tabelle III angegeben.

Für diesen Zweck wurde Butter aus einer frisch geöffneten Büchse bei einer Temperatur von 50° C zerschmolzen und dann 6 Erlenmeyersche Flaschen von 50 ccm Inhalt damit gefüllt. Zwei von diesen Flaschen erhielten kein Antiseptikum und wurden verschlossen, ohne einer höheren Temperatur ausgesetzt zu

werden; zu zweien wurde Thymol[1]) im Verhältnisse von 1:100 hinzugefügt, während die letzten zwei 30 Minuten lang in ein Wasserbad bei —° C gesetzt wurden und dann, wie das zweite Paar, auch Thymol erhielten. Diese sämtlichen Flaschen wurden bei 23° C Wärme aufbewahrt und eine von einem jeden Paare nach 27 Tagen und die andere nach 54 Tagen untersucht. Die bei der Eröffnung der Flaschen geimpften Gelatineplatten zeigten, daß die Butter fast steril war.

Tabelle III.
Versuch, die Anwesenheit lipolytischer Enzyme in verpackter Butter zu bestimmen.

Butterproben in Flaschen	Säurezahl ohne Erhitzung, ohne Antiseptikum	ohne Erhitzung, mit Antiseptikum	mit Erhitzung und mit Antiseptikum
Sogleich	1,1	1,1	1,1
Nach 27 Tagen	1,4	1,4	1,2
„ 54 „	1,6	1,6	1,2

Die Uebersicht dieser Tabelle zeigt uns, daß die Freisetzung von Fettsäuren durch die Hinzufügung des Antiseptikums nicht gehemmt wurde, daß aber durch Erhitzung die Erhöhung der Säurezahl ganz aufgehoben wurde. Die Zersetzung wurde also weder durch chemische und physikalische Faktoren, auf die die Erhitzung keinen Einfluß haben konnte, noch durch Mikroorganismen, deren Existenz in diesem Falle das Antiseptikum unmöglich machte, verursacht. Es ist aber anzunehmen, daß die Zersetzung durch ein Enzym, auf welches das Antiseptikum ohne Einfluß, die Erhitzung aber zerstörend wirkte, bewerkstelligt wurde.

Enzyme der lipolytischen Klasse finden in der Natur eine weite Verbreitung und sind in vielen Organen und Sekretionen des Körpers, in Pflanzen, hauptsächlich in Samen mit einem hohen Oelgehalte, und in verschiedenen Schimmelpilzen festgestellt worden. Ein Enzym könnte auf zweierlei Weise in der Butter vorkommen, nämlich in der Butter selbst, von Mikroorganismen produziert oder aus dem Euter der Kuh, durch die Milch in dieselbe hinübergeführt.

1. Enzyme, von Mikroorganismen produziert.

Von den Organismen, die bekanntlich Lipase produzieren, werden nur Schimmelpilze und gewisse Bakterien in der Butter vorgefunden.

---

1) Zuerst wurde in dieser Arbeit Thymol verwendet, weil man gewöhnlich annimmt, daß es auch in kleinen Quantitäten wirkt, und der hemmende Einfluß auf die meisten Enzyme nicht so kräftig wie bei Formaldehyd hervortritt. Aber wegen der Tendenz dieser Substanz, mit Fett zu kombinieren und wegen ihrer nur geringen Wasserlöslichkeit ist dieselbe nicht immer bei Fettmischungen in höheren Verhältnissen, wie 1:200 wirksam. In diesen Untersuchungen wurde die antiseptische Wirkung in allen Fällen durch bakteriologische Bestimmungen bestätigt. Formaldehyd wurde später an Stelle von Thymol verwendet, weil, wenn es auch, wie von Kastle und Loevenhart (9) bewiesen ist, daß es einen sehr geringen oder möglicherweise gar keinen Einfluß auf Lipase hat, es doch in kleinen Quantitäten wirkt, sich nicht mit Fett verbindet und sich leicht im Wasser auflöst.

Jensen (4) filtrierte B. fluorescens liquefaciens- und Oidium lactis-Kulturen durch ein Chamberland-Filter, mischte das Filtrat einer Quantität Butterfett bei und erhielt in demselben eine kleine Erhöhung der Säurezahl, welche er der Anwesenheit von Lipase zuschreibt. Die zwei genannten Mikroorganismen sowie auch die Schimmelpilze, in welchen die Sekretion von Lipase bekanntlich recht häufig vorkommt, sind Aëroben und sind bei in Büchsen verpackter Butter nicht anwesend.

Viele Versuche wurden mit den aus der verpackten Butter isolierten Bakterien angestellt, um ihre fettspaltenden Fähigkeiten zu bestimmen, aber in allen Fällen waren die Resultate negativ. Andererseits wurde aber gefunden, daß die am häufigsten vorkommende Hefe T eine, wenn auch schwache, doch deutliche lipolytische Fähigkeit besaß. Diese wurde bestimmt, indem man 6 bis 8 ccm einer 5 oder 6 Tage alten, in steriler Milch bei 30° C gezogenen Kultur mit 20 ccm Butterfett durch heftiges Schütteln in kaltem Wasser gut vermischte und dann in einem Brütschranke bei einer Temperatur von 23° C aufbewahrte. Die Säurezahl wurde wiederholt bestimmt. Für eine jede solche Bestimmung wurde eine frische Flasche gebraucht und zur selben Zeit wurde auch auf Gelatineplatten die Reinheit der Kultur ermittelt. Die Erhöhung der Säurezahl ist in folgender Tabelle dargestellt:

Tabelle IV.

Erhöhung der Säurezahl durch die Hefe T.

Butterproben	Säurezahl
Sogleich	0,6
Nach 13 Tagen	3,5
„ 27 „	4,4
„ 42 „	9,3

In der Kontrolle, die aus einer Mischung von steriler Milch und Butterfett bestand, war keine Steigerung der Säurezahl zu verzeichnen.

In diesen Bestimmungen ist die Tätigkeit der lebenden Zellen und die der Enzyme nicht zu unterscheiden, aber die Fähigkeit dieser Torula-Hefe, ein lipolytisches Enzym hervorzubringen, kann in einer sehr einfachen Weise bewiesen werden. Eine Oese voll einer Emulsion von Butterfett und geschmolzenem Agar wurde auf ein geglühtes Deckgläschen getan und nachdem der Agar koaguliert war, wurde diese Emulsion mittelst einer Platinnadel von einer Agarkultur geimpft und das Deckgläschen dann auf einer Hängetropfenkulturscheibe mit Vaselin verkittet. Schon nach 24 Stunden hatte sich eine kleine Kolonie um den Inokulationspunkt entwickelt. Diese wurde täglich mittels des Mikroskops besehen und es stellte sich heraus, daß die Fetttröpfchen der Emulsion in der Nähe der Kolonie sich allmählich auflösten, so daß nach einigen Tagen dieselbe von einer klaren Zone umgeben war.

Dieselbe Wirkung auf Butterfett hatte der Zusatz einer alten

Milchkultur, in der die Tätigkeit der Zellen durch ein Antiseptikum aufgehoben worden war. Eine 1 Monat alte Kultur, die in Milch als Nährmedium unter günstigen Temperaturverhältnissen gehalten worden war, wurde in zwei Portionen geteilt, von denen eine einer Hitze von 80° C 10 Minuten lang ausgesetzt wurde. Nach der Erhitzung der einen erhielten beide Portionen einen Zusatz von Formaldehyd in dem Verhältnisse von 1 : 1500. Im Wasserbade erhitztes Fett wurde hinzugefügt, die Mischung in kleinen Flaschen versiegelt und bei 23° C aufbewahrt. Nach 71 Tagen, als die Säurebestimmung vorgenommen wurde, zeigten Gelatineplatten, daß beide Flaschen steril waren.

Tabelle V.

Anwesenheit eines Enzyms in Kulturen von der Torula-Hefe T.

Proben	Säurezahl	
	Nicht erhitzt, mit Antiseptikum	Erhitzt, mit Antiseptikum
Sogleich	0,92	0,92
Nach 71 Tagen	57,56	2,48

Die Säurezahl ist in der erhitzten Kontrollflasche ein wenig gestiegen, was möglicherweise der Entwickelung von Säure in der Milchkultur, ehe das Antiseptikum hinzugefügt worden war, durch die Spaltung des nach der Entrahmung zurückgebliebenen kleinen Quantums von Fett verursacht, zuzuschreiben ist. Auch ist es möglich, daß das Enzym durch die 10 Minuten lang dauernde Erhitzung auf 80° C nicht zerstört worden ist. In jedem Falle konnte aber die bemerkenswerte Erhöhung der Säurezahl in der nichterhitzten Portion nur durch ein von der Torula-Hefe T produziertes Enzym bewirkt werden.

Morphologisch sind diese Organismen elliptische, an den Enden sprossende Torula-Hefen, die nur sehr wenig zur Ketten- oder Gruppenbildung neigen.

In frischen Kulturen sind die Zellen in Form und Größe recht gleichmäßig und variieren gewöhnlich von 3,6 bis 4,5 μ in der Länge und von 1,8 bis 2 μ in der Breite. In Zucker wird keine Gärung durch diese Organismen hervorgerufen.

Bei einer Temperatur von 30° C wird Milch sehr langsam zersetzt, ohne erst zu gerinnen.

In neutralen Bouillonkulturen starben sie nach 10 Minuten bei einer Temperatur von 53° C oder nach 1 Minute bei einer Wärme von 58° C ab.

Die Kolonieen entwickeln sich nicht auf Gelatine, die 1,4 Milchsäure oder 0,2 Buttersäure enthält. Die Entwickelung geht unter aërobischen sowohl wie anaërobischen Verhältnissen ungehindert vor sich.

(Schluß folgt.)

Zur Einwirkung von Bakterien auf Zuckerarten.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation des Garnisonslazarettes Würzburg.]

(Zweite Mitteilung.)

Von Dr. **Adalbert Segin**.

Durch die neueren Forschungen auf dem Gebiete der Gärungschemie hat man gefunden, daß von den Monosen nur solche mit drei oder einem mehrfachen davon an Kohlenstoffatomen im Molekül der alkoholischen Gärung fähig sind; Biosen werden zuvor in Monosen gespalten [1]). Nach den Untersuchungen von Buchner wird diese Spaltung, ebenso wie der eigentliche Gärungsprozeß, nicht durch die Hefezellen selbst, sondern durch eine von diesen erzeugte, eiweißähnliche Substanz bewirkt, die man Enzym genannt hat.

In einer vor einiger Zeit aus der hiesigen bakteriologischen Untersuchungsstation erschienenen Arbeit [2]) wurde über Veränderungen von Serum- und Nutrosenährböden berichtet, die mit verschiedenen Zuckerarten versetzt und mit einer Reihe der bekannteren Bakterien geimpft waren. Auch eine Reinkultur von Hefe (Würzburger Hofbräu) war zu den Versuchen herangezogen worden. Es hatte sich ergeben, daß dieselbe die Milchzucker, Erythrit, Maltose, Dulcit und Raffinose enthaltenden Nährböden überhaupt nicht oder nur sehr wenig angriff; eine schwache Säurebildung war zu konstatieren bei den Glukose-, Fruktose- und Galaktoseböden. Milchzucker im Serumnährboden verhielt sich passiv, dagegen wurde Traubenzucker in der gleichen Nährflüssigkeit bereits nach 48 Stunden zersetzt. Intensiver als Saccharomyces wirkten die Bakterien auf die Zuckerarten ein, doch zeigten sich in ihrem Verhalten beträchtliche Unterschiede. Von den Nutrosenährböden wurden diejenigen, welche Monosen, wie Glukose, Fruktose, Galaktose enthielten, von den meisten Bakterien zersetzt. Widerstandsfähiger erwiesen sich die Biosen (Milchzucker, Maltose). Die verwendeten Alkohole wurden mit Ausnahme des Mannits überhaupt nicht oder nur in höchst geringem Maße angegriffen. Bei einigen Nährböden wurde die nach acht Tagen gebildete Säuremenge durch Titration mit $\frac{KOH}{100}N$ festgestellt; die Anzahl der verbrauchten ccm Lauge differierte bei den einzelnen Kulturen nicht allzusehr. Aus der Tatsache, daß die erzeugte Säure nicht immer Koagulation verursachte, konnte geschlossen werden, daß für die Kaseïnausfällung nicht allein die Menge, sondern auch die Art der gebildeten Säure maßgebend ist.

---

1) Hollemann, Organische Chemie. 2. Aufl.

2) Dieudonné und Segin, Ueber die Einwirkung von Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. Bakt. Centralbl. Bd. XXXIV. 1903. I. Abt.

Von den Serumnährböden wurden solche mit Trauben- und Milchzucker untersucht; es ergab sich, daß insbesondere Glukose von einer größeren Anzahl Bakterien unter Säurebildung zersetzt wurde, und daß ferner die gebildete Säure häufiger Koagulation verursachte als in den entsprechenden Nutroseböden.

Sämtliche in den Bereich der Versuche gezogenen Zuckerarten und Alkohole, mit Ausnahme des Erythrits, enthalten im Molekül sechs oder ein mehrfaches davon an Kohlenstoffatomen; nun war aber gerade Erythrit, der der Erythrose entsprechende Alkohol, der einzige Körper, welcher von keinem der Bakterien unter Säurebildung zersetzt wurde.

Auf Anregung des Herrn Stabsarztes Professor Dr. Dieudonné prüfte ich das Verhalten einiger wichtigen Bakterien gegen Zuckerarten, die im Molekül 5 und 7 Kohlenstoffatome enthielten, nämlich Arabinose und Xylose $C_5 H_{10} O_5$ und α-Glukoheptose $C_7 H_{14} O_7$. Ferner wurde noch eine Zuckerart alkoholischen Charakters, nämlich Quercit $C_6 H_7 (OH)_5$ zu den Versuchen herangezogen. Da die Nutrosenährböden eine einigermaßen erhebliche Säurebildung durch reichliche Eiweißausscheidung anzeigen (Nutrose ist eine Natrium-Kaseïnverbindung), so schien ihre Anwendung wie bei den früheren Arbeiten am geeignetsten. Hergestellt wurden sie in der Weise, daß eine wässerige Lösung von 1 Proz. Nutrose und $^1/_2$ Proz. Natriumchlorid eine Stunde lang dem strömenden Dampfe ausgesetzt und hierauf 1 Proz. der betreffenden Zuckerart und 10 Proz. Lackmustinktur Kahlbaum zugesetzt wurde. Nach dem Abfüllen in Reagenzröhrchen wurde nochmals $^1/_4$ Stunde lang in Dampfstrom erhitzt. Diese fraktionierte Sterilisation sollte eine durch zu langes Erhitzen bewirkte, mehr oder minder tiefgehende Zersetzung des Zuckermoleküles verhindern, wie eine solche bereits bei Milch- und Traubenzucker mehrfach vermutet wurde. Einen Formosenährboden in dieser Weise herzustellen gelang nicht, trotz mehrmaliger Versuche; derselbe war bereits nach mehreren Minuten Erhitzen total zersetzt, welche Erscheinung sich wohl aus der geringen Widerstandsfähigkeit der Formose gegenüber hohen Temperaturen erklärt. Die folgende Tabelle giebt eine Uebersicht über die gewählten Bakterien und Nährböden. Die Versuche erstreckten sich über eine Zeitdauer von 8 Tagen; die Beobachtungen wurden wie in der früheren Arbeit durch entsprechend gewählte Zeichen wiedergegeben. So bedeutet — keine Veränderung des Nährbodens, s saure Reaktion desselben, ± teilweise, + vollständige Kaseïnausscheidung, t. E. teilweise, v. E. völlige Entfärbung des Nährbodens.

(Siehe Tabelle p. 399.)

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß α-Glukoheptose und Quercit von den verwendeten Bakterien überhaupt nicht angegriffen werden, während Arabinose und Xylose, also Zuckerarten der Formel $C_5 H_{10} O_5$ durch die Einwirkung von Bact. coli und enterit. sich zersetzen.

Ist es mithin auch unwahrscheinlich, daß die Widerstandsfähigkeit der Zuckerarten gegen Bakterien ähnlich ihrem Verhalten

	Nutrosenährböden, enthaltend																															
	α-Glukoheptose								Quercit								Xylose								Arabinose							
Beobacht. n. Tagen	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
Bacter. typhi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— s	— s	— s	— s	— s	— s	— s	— s	—	—	—	—	— s	— s	— s	— s
Bacter. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— s	— s	— s	— s	+ s				— s	— s	— s	— s	— s	± s	± s	+ s
B. paratyphi, Stamm Schottmüller	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— v. E.	—	—	—	—	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— t. E.
Bact. faecal. alcal.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. enterit.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— s	— s	— s	∓ s	∓ s	∓ s	+ s		— s	— s	± s	+ s				
Bact. acid. lact.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— t. E.	— t. E.	—	—	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— v. E.	— s	— s	— s	— t. E.	— t. E.	— v. E.	— v. E.	— v. E.
Bact. proteus vulg.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— s	— s	— s	— s	— s	— s	— s	— s	—	—	—	—	— t. E.	— t. E.	— t. E.	— t. E.
Vibr. choler.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— t. E.	— t. E.	— v. E.	— v. E.	— v. E.

gegenüber Saccharomyces von der Anzahl der im Molekül enthaltenen Kohlenstoffatome im wesentlichen Maße abhängig ist, so kann aus den vorliegenden und früheren Versuchen immerhin geschlossen werden, daß Zuckerarten von aldehyd- und ketonartigem Charakter, wie Glukose, Fruktose etc. auf Nutrosenährböden der Einwirkung von Bakterien weit zugänglicher sind, als die solchen Verbindungen entsprechenden Alkohole.

Die Atmung und Gärung der verschiedenen Arten abgetöteter Hefe.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Institut von Prof. Dr. W. Palladin in St. Petersburger Universität.]

Von **J. Warschawsky.**

Als der wichtigste Moment in der Geschichte der Untersuchungen über Gärungsprozesse muß das Erscheinen einer kleinen Abhandlung von E. Buchner im Jahre 1897[1]) angesehen werden. Darin berichtete er in kurzen Worten, es sei ihm gelungen, das Enzym der alkoholischen Gärung, welches er Zymase nannte, auszuscheiden. Ebenso, wie im letzten Drittel des 19. Jahrhunderts die Arbeiten Pasteurs eine ganze Reihe von Untersuchungen ins Leben riefen, so gab auch die Entdeckung Buchners einen starken Anstoß zur weiteren Erforschung des von ihm erhaltenen Enzyms. Am bemerkenswertesten sind die Arbeiten von E. Buchner selbst, sowie diejenigen seiner Mitarbeiter M. Buchner, M. Hahn, R. Albert und R. Rapp; eine systematische Zusammenstellung dieser Arbeiten findet man in dem 1903 erschienenen Werk „Zymasegärung“ [2]).

Von seinem ursprünglichen Verfahren bei Erhaltung der Zymase, dem Auspressen des sogenannten Preßsaftes, ging Buchner später zu einer vollkommeneren Methode, welche in dem Abtöten der Zellen ohne Zerstörung des Enzyms besteht, über; diesen Zweck erreichte[3]) er durch aufeinanderfolgendes Einwirken von Aceton und Aether. Das so erhaltene Dauerhefepräparat kann unbestimmt lange Zeit aufbewahrt werden, ohne seine enzymatische Wirkung zu verlieren und ist unter dem Namen Zymin in Verkauf gelangt[4]). In der „Zymasegährung“ haben die Kohlensäureausscheidung und die Alkoholbildung durch das Zymin ihre Untersuchung gefunden. Die Frage über Sauerstoffaufnahme ist dagegen fast ganz unberührt geblieben. Diese Lücke ist durch die Arbeit von Telesnin über den Gaswechsel des Zymin auf verschiedenen Substraten ausgefüllt worden.[5]) Das Verhältnis $CO_2 : O_2$ schwankte bei ihm für ver-

1) Berichte der chem. Ges. 30. 1897.
2) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn. Die Zymasegärung. 1903.
3) R. Albert, E. Buchner und R. Rapp. Ber. d. d. chem. Ges. 35. 1902.
4) Bei A. Schroder, Landwehrstraße 45, München.
5) Telesnin, Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 205.

schiedene Zuckerarten zwischen 44,7 und 78,8. Diese Zahlen übersteigen bedeutend die Koeffizienten von Iwanovsky[1]), welche derselbe für lebende Hefe erhielt ($CO_2 : O_2$ ungefähr = 10). Dieser Unterschied läßt sich am einfachsten dadurch erklären, daß lebende Hefe eine größere Menge an Sauerstoff braucht, da derselbe zur Unterhaltung ihrer Lebensfunktionen notwendig ist.

Den Arbeiten Buchners und seiner Schule verdanken wir die Feststellung der Tatsache, daß die Gärung ein enzymatischer Prozeß ist. Indessen sind die Bedingungen, unter welchen sich die Zymase bildet und anhäuft, fast gänzlich unerforscht geblieben. Deshalb unternahm ich es auf den Vorschlag und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. W. Palladin, die Bildung der Zymase in ihrer Abhängigkeit von der Hefeart und den Nährbedingungen zu untersuchen. Als Anzeichen der enzymatischen Prozesse diente der Gaswechsel des von mir aus entsprechendermaßen herangezogener Hefe bereiteten Zymins. Als Versuchsobjekte dienten: S. cerevisiae I Hansen, Schizosaccharomyces Pombe, S. membranaefaciens und S. apiculatus. Die Nährsubstrate waren folgende: Bierwürze (Versuche 2, 5, 8, 9), Rosinenextrakt — 400 g Rosinen auf 1 Liter (Versuche 10 und 11) und künstliche Mischungen mit $^1/_4$ normalen Lösungen von Kohlenstoffverbindungen: Das verdreifachte Gemisch Laurent (PO_4K_2H — 2,25 g, $MgSO_4$ — 0,3 g auf 1 Liter; 1 Proz. Pepton) + 4,55 Proz. Mannit (Versuche 3 und 4); dasselbe Gemisch + 2,3 Proz. Glyzerin (Versuch 6); im Versuche 7 diente als Nährsubstrat die gewöhnliche Mischung Laurent (PO_4K_2H — 0,75 g, $MgSO_4$ — 0,1 g), in welcher das Pepton durch $PO_4(NH_4)_2H$ — ersetzt war und als Kohlenstoffquelle 4,5 Proz. Glukose diente.

Die Versuchsanordnung war folgende: Junge, zweitägige Hefekulturen auf Bierwürze wurden auf die entsprechenden Nährsubstrate in Fernbachschen Kolben von 2 Liter Inhalt ausgesät. Die Flüssigkeitsschicht war $^1/_2$ cm tief und außerdem wurden die Kolben 2 mal am Tag energisch geschüttelt; so wurde vollständige Aeration erzielt. Die Kulturen wurden in ein dunkles Thermostat von 31—32° gebracht. Wenn eine genügende Hefenmenge herangewachsen war auf einer Nutsche von 10 cm Durchmesser von der Nährflüssigkeit abfiltriert und darauf aus ihr mittels Aceton nach der Methode von Albert Buchner und Rapp[2]) das Zymin bereitet. Zum Abfiltrieren der Hefe diente gehärtetes Papier von Schleicher und Schüll No. 575. Die in die genannte Methode hineingetragene Abänderung bestand darin, daß das Wasser bloß auf der Nutsche abgesaugt und die Hefe nach der auf solche Weise erzielbaren Entwässerung direkt auf der Nutsche mit Aceton übergossen wurde; das weitere geschah nach den Anweisungen Buchners. Wie wenig (bei kleineren Mengen von Hefe) die Vereinfachung der Methode auf die Enzymtätigkeit Einfluß hat, ersieht man aus Tab. II und V. Darauf wurde das Zymin in

1) Iwanovsky, Annalen der Akademie d. Wissenschaften. LXXIII. Lief. 2. 1894.

2) Ber. d. d. chem. Ges. 35. p. 2376. (1902). Zymasegärung. p. 266. (1903).

einem Hansenschen Glaskasten unter sterilen Bedingungen in eine Rollkultur eingesät, was mittels eines gläsernen Maßes[1]) geschah. Die Versuche wurden in Probierröhrchen von 20 ccm Inhalt mit 2 g Nährflüssigkeit und ungefähr 0,2 g Zymin ausgeführt. Die Analyse der Gase machte ich mit dem Apparat von Bonnier und Mangin. Das Verhältnis $CO_2 : O_2$ berechnete ich nach der Formel von Dehérain und Maquenne[2]):

$$\frac{CO_2}{O_2} = \frac{79{,}04\ a}{20{,}96\ c - 79{,}04\ b} = \frac{a}{q c - b} \text{ wo } q = \frac{2096}{7904}$$

$a = CO_2$, $b = O_2$, $c = N_2$ in Proz. des analysierten Gemisches. Ich nahm $N_2 = 79{,}14$ Proz. an; $O_2 = 20{,}86$ Proz., folglich $q = \frac{2086}{7914} = 0{,}26263$.

Alle in den Tabellen angeführten Zahlen stellen das Mittlere aus zwei Analysen vor, wobei der Unterschied zwischen zwei Bestimmungen desselben Gases 0,1 Proz. nicht übersteigen durfte.

Nach Beendigung der Versuche wurde eine genaue mikroskopische Untersuchung unternommen, sowie Umsaaten auf Bouillon, Bierwürze und Bierwürze mit Gelatine. Die Kulturen, welche zur Anfertigung des Acetonapparates dienten, wurden ebenfalls einer sorgfältigen Prüfung unterworfen. Diejenigen Versuche, in welchen eine Infektion stattgefunden hatte, wurden nicht berücksichtigt.

Bevor ich zu meiner Untersuchung schritt, unternahm ich einige Versuche über den Gaswechsel des käuflichen Zymins. Als Beispiel führe ich einen von ihnen an:

Versuch 1.

Käufliches Zymin. Rollkultur: 2 ccm Würze + 10 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Zymin. Verschlossen am 12. Mai 1903.

Tabelle I.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
13. Mai	28 Std.	40,13	11,42	48,45	30,87
14. „	51 „	49,72	9,10	41,18	28,91

Wie auch Telesnin, erhielt ich sehr hohe Koeffizienten. In allen Versuchen dieser Reihe begann die Gelatine sich verhältnismäßig früh zu verflüssigen, nämlich schon am dritten Tage. Der Grund war das außerordentlich heiße Wetter (bis 34°).

Versuch 2.

S. cerevisiae I Hansen. Nährmittel: Würze; 6-tägige Kultur. Das Acetonpräparat hellgelb. Rollkultur: 2 ccm 10 Proz. Saccharoselösung + 13 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 17. Oktober 1903.

---

1) Die Abbildung in der Abhandlung von Telesnin l. c.

2) Recherches sur la respiration des feuilles à l'obscurité. (Ann. agron. V. XII. 1886.)

Tabelle II.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2O_2
18. Okt.	24 Std.	34,35	12,40	53,24	21,74
19. „	46 „	48,05	8,03	43,32	17,49

Wie ich in der Einleitung bemerkte, zeigt dieser Versuch, daß die bei der Zubereitung des Zymins zugelassene Vereinfachung keinen besonderen Einfluß auf die enzymatische Wirkung desselben ausübt.

Versuch 3 und 4.

S. cerevisiae I Hansen. 28-tägige Kultur auf dem (verdreifachten) Gemisch von Laurent und 4,55 Proz. Mannit. Sehr schwache Entwickelung der Hefe. Das Acetonpräparat hell, schwach gelb. Rollkultur: 2 ccm 18 Proz. Glukoselösung + 16 Proz. Gelatine + ca. 0,3 g Acetonhefe. Verschlossen am 25. November 1903.

Tabelle III.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
26. Nov.	19 Std.	0,21	20,30	79,49	0,36
27. „	50 „	0,41	19,75	79,82	0,36
28. „	70 „	1,82	17,60	80,58	0,51
1. Dez.	147 „	58,04	0,26	41.70	5,43
2. „	170 „	67,57	0	32,43	
3. „	194 „	72,92	0	27,08	
4. „	216 „	76,83	0	23,17	

Verschlossen am 11. Dezember 1903.

Tabelle IV.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
12. Dez.	23 Std.	0,69	19,74	79,57	0,59
13. „	45 „	1,04	19,18	79,78	0,59
14. „	67 „	2,41	17,26	80,33	0,63
15. „	95 „	5,90	13,32	80,78	0,75
16. „	120 „	17,84	4,75	77,41	1,15
17. „	145 „	41,44	0,24	58,32	2,73
18. „	168 „	58,30	0,12	41,58	5,40
19. „	189 „	68,52	0	31,48	

Es ist festgestellt, daß Hefe auf Mannit und Glycerin Koeffizienten gibt, die nicht der Gärung, sondern der Atmung entsprechen[1]). Aus Tabelle III und IV ist ersichtlich, daß S. cerevisiae, auf Mannit erzogen, kein Zymin ausarbeitet. Dies folgt aus dem Gaswechsel des Zymin während der ersten Versuchstage. Die darauffolgende starke Erhöhung der Kohlensäureausscheidung läßt sich dadurch erklären, daß unter gegebenen Verhältnissen die Hefe keine Zymase, wohl aber Zymasogen ausarbeitet, welches sich unter

1) E. Kollegorsky und Zassouchine. (Centr. f. Bakteriologie. XI. 1903. p. 95.)

günstigen Nährbedingungen (Anwesenheit von Glukose) in Zymase verwandelt. Trotzdem die sorgfältigsten Prüfungen auf eine Infektion hin angestellt wurden, darf jedoch diese Tatsache nicht als festgestellt betrachtet werden, solange sie nicht durch eingehende Untersuchungen mit gleichen Resultaten bestätigt wird, da die Annahme möglich ist, es handele sich hier um eine Infektion durch Hefe oder andere Mikroorganismen. In Anbetracht der Wichtigkeit dieser Frage ist also ein skeptisches Verhalten zu den hohen Koeffizienten am Ende der beiden Versuche geboten.

Versuch 5.

Schizosaccharomyces Pombe. 6-tägige Kultur auf Bierwürze. Reichliche Entwickelung der Hefe. Das Acetonpräparat ist hellgelb. Rollkultur: 2 ccm Würze + 16 Proz. Gelatine + circa 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 19. Oktober 1903.

Tabelle V.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
20. Okt.	26 Std.	31,98	11,72	56,30	10,42

Folglich enthält auf Würze herangezogene S. Pombe Zymase.

Versuch 6.

Schizosaccharomyces Pombe. 23-tägige Kultur auf verdreifachtem Gemisch von Laurent + 2,3 g Glycerin. Sehr schwache Entwickelung der Hefe. Das Acetonpräparat fast weiß.

Rollkultur: 2 ccm 18 Proz. Glukoselösung + 16 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 19. Dezember 1903.

Tabelle VI.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
20. Dez.	23 Std.	0,22	20,22	79,56	0,33
21. „	44 „	0,44	19,77	79,79	0,37
22. „	68 „	0,98	18,90	80,12	0,46
23. „	93 „	20,62	4,30	75,08	1,34
24. „	116 „	42,23	0,63	57,14	2,94
25. „	144 „	59,92	0,18	39,90	5,82
25. „	3/4 Std. Luftdurchsaugung.				
26. „	23 Std.	24,21	7,07	68,72	2,21
27. „	48 „	46,39	0,22	53,39	3,36
28. „	72 „	60,31	0	39,69	—

Die Folgerungen wie aus den Versuchen 3 und 4.

Versuch 7.

Schizosaccharomyces Pombe. 14-tägige Kultur auf einfachem Gemisch Laurent, in welchem das Pepton durch 0,47 Proz. $PO_4(NH_4)_2H$ + 4,5 Proz. Glukose ersetzt ist. Die Hefeentwickelung ist sehr schwach. Das Acetonpräparat blaßgelb. Rollkultur: 2 ccm 18 Proz. Glukoselösung + 13 Proz. Gelatine + circa 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 3. Januar 1904.

Tabelle VII.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
4. Jan.	22 Std.	0,44	19,87	79,69	0,42
5. „	47 „	0,45	19,84	79,71	0,41
6. „	77 „	0,61	19,58	79,81	0,44

Nach den Angaben von Wosnessensky und Eliseeff[1]) gibt S. Pombe auf phosphorsaurem Ammoniak sehr niedrige Koeffizienten, welche auf die Abwesenheit eines Gärprozesses hinweisen. Wie aus Tabelle VII ersichtlich, enthält das auf entsprechende Weise erhaltene Zymin keine Zymase.

Versuch 8.

S. membranaefaciens. 4-tägige Kultur auf Bierwürze. Ungeheuer starke Entwickelung der Hefe. Das (schwach durchwässerte) Acetonpräparat ist braun. Rollkultur: 2 ccm 18 Proz. Glukoselösung + 13 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 22. Januar 1904.

Tabelle VIII.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2	CO_2/O_2
23. Jan.	20 Std.	1,04	18,30	80,66	0,36
24. „	47 „	1,53	17,05	81,42	0,35
25. „	70 „	2,09	15,86	82,05	0,37
26. „	92 „	2,88	14,85	82,27	0,43
27. „	117 „	3,68	14,10	82,22	0,49

Bekanntlich vermag S. Membranaefaciens keine Gärung hervorzurufen. Die Analyse des Gaswechsels des aus ihr bereiteten Zymins deutet auf eine vollständige Abwesenheit der Zymase hin; zugleich ist aus Tabelle VIII das Vorhandensein eines stark oxydierenden Ferments zu ersehen.

Versuch 9.

S. membranaefaciens. Die Versuchsbedingungen, wie in Versuch 8, aber 1) 2-tägige Kultur, 2) die Hefe wurde bei Bereitung des Zymins lange mit Wasser gewaschen, wobei sie sich stark dunkel färbte. Das Acetonpräparat war dunkelbraun. Rollkultur. Verschlossen am 22. Januar 1904.

Tabelle IX.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2
23. Jan.	20 Std.	0,1	19,87	80,12
24. „	47 „	0,1	18,74	81,25
25. „	70 „	0,1	17,76	82,23
26. „	92 „	0,1	17,40	82,59
27. „	117 „	0,4	17,09	82,90

1) Wosnessensky und Elisseeff, Centralblatt f. Bakteriologie. 1903. p. 630.

Keine Kohlensäureausscheidung, schwache (vergl. Tabelle VIII) Sauerstoffaufnahme. Dies erklärt sich dadurch, daß bei der intensiven Durchwässerung ein Verlust an Oxydase stattgefunden hatte, was sich für das Auge in der braunen Färbung bemerkbar machte.

Versuch 10.

S. Apiculatus. 5-tägige Kultur auf Rosinenextrakt. Sehr reichliche Hefeentwickelung mit starkem Aethergeruch. Das Acetonpräparat ist braun.

Rollkultur: 2 ccm 34,2 Proz. Saccharoselösung + 13 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 9. Januar 1904.

Tabelle X.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2
10. Jan.	22 Std.	0	20,03	79,97
11. „	49 „	0	19,74	80,26
12. „	75 „	0	19,73	80,27

Versuch 11.

S. Apiculatus. Zymin aus der Portion vom 10. Versuch. Rollkultur: 2 ccm 18 Proz. Glucoselösung + 13 Proz. Gelatine + ca. 0,2 g Acetonhefe. Verschlossen am 9. Januar 1904.

Tabelle XI.

Datum	Dauer d. Versuches	CO_2	O_2	N_2
10. Jan.	22 Std.	0,15	20,20	79,65
11. „	49 „	0,14	19,90	79,96
12. „	75 „	0,37	19,59	80,04

Bekanntlich zerlegt S. Apiculatus Glukose, enthält aber keine Invertase. Die Versuche 10 und 11 wurden angestellt, um den Unterschied im Gaswechsel des aus S. Apiculatus bereiteten Zymins auf Glukose und Saccharose festzustellen. Leider konnte kein wesentlicher Unterschied im Charakter dieses Gaswechsels bemerkt werden.

Zum Schlusse halte ich es noch für notwendig, darauf aufmerksam zu machen, daß in der Rollkultur, wo Zymase vorhanden war, die Gelatine sich am 4. Tage verflüssigte. Dort dagegen, wo keine Zymase zu finden war, ließ sich diese Verflüssigung nicht vor dem 9. Tage bemerken und in einigen Fällen war sie am 12. Tage noch nicht eingetreten.

Die von mir erhaltenen Resultate können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1) In denjenigen Hefearten, welche Alkoholgärung hervorrufen (S. Cerevisiae I Hansen, S. Pombe) und auf gärfähigen Nährsubstraten herangezogen werden, bildet sich Zymase. Ihr Vorhandensein wurde in den Acetondauerhefepräparaten auf Grund von Koeffizienten, welche zwischen 10,42 und 30,87 schwankten, konstatiert (Versuche 1, 2, 5).

2) In den genannten Hefearten bildet sich, wenn sie auf Nährsubstraten, die nicht vergoren werden können, herangezogen werden,

keine Zymase. Das Verhältnis $CO_2 : O_2$ ist beständig niedriger als 1 (Versuche 3, 4, 6).

3) Bei S. Pombe, welche auf gärfähigem Substrat erzogen wird, dem jedoch Stickstoff in Form von phosphorsaurem Ammoniak zugefügt worden ist, bildet sich keine Zymase (Versuch 7).

4) S. Membranaefaciens, welche bekanntlich keine Gärkraft besitzt, enthält keine Zymase. Die Koeffizienten schwanken zwischen 0,35 und 0,49, was auf die Anwesenheit einer Oxydase hindeutet (Versuche 8 und 9).

Zur Morphologie einer neuen Cytospora.

Von Dr. **R. Laubert.**

Mit 1 Tafel.

Im März 1904 fand ich in der Nähe Berlins an halbtoten Stachelbeersträuchern, die im Herbst 1903 ausgerodet und seitdem uneïngepflanzt im Garten gelegen hatten, ganz kleine goldgelbe Würstchen, die aus der Rinde der Aeste und Zweige hervorkamen und ohne weiteres als die „Sporenranken" eines Pilzes zu erkennen waren. Die Vermutung, daß es sich um eine Cytospora handele, wurde durch die mikroskopische Untersuchung bestätigt. Es stellte sich hierbei heraus, daß der vorliegende Pilz mit keiner der bisher von Ribes-Arten beobachteten und beschriebenen Pilzformen übereinstimmt. Es soll daher eine Beschreibung der neuen Cytospora gegeben werden. Der Pilz verdient auch deshalb Beachtung, weil er einer Gattung zugehört, deren Vertreter — und zwar jedenfalls mit Recht — in dem Verdacht stehen, durchaus nicht immer ganz unschädlich für ihre Wirtspflanze zu sein. Auf die Mitwirkung einer Cytospora beziehentlich Valsa ist bekanntlich von Frank nnd Aderhold das Rheinische Kirschbaumsterben zurückgeführt worden. Eine andere Valsa, von der nur die Perithecienform bekannt ist, haben von Tubeuf und Nijpels in Beziehung zu einer Erkrankung der Erlen gebracht, und neuerdings hat van Hall eine Cytosporina, deren Perithecienform noch unbekannt ist, als die Ursache eines Absterbens von Beerenobststräuchern hingestellt. Ob ganz allgemein all die unzähligen, auf den verschiedensten Gehölzen vorkommenden Cytospora-, sowie ihnen nahe verwandte Pilzformen unter gewissen Umständen zu mehr oder weniger gefährlichen Pflanzenschädigern zu werden vermögen, darüber läßt sich ein bestimmtes Urteil zur Zeit noch nicht abgeben. Der Umstand, daß man diese Pilze nur an abgestorbenen Zweigteilen wahrnimmt, weil sich ihre Fruchtkörper nur an toten Pflanzenteilen entwickeln, scheint ja dafür zu sprechen, daß man es mit harmlosen Saprophyten zu tun hat. Andererseits darf aber nicht vergessen werden, daß dann, wenn die Fruchtkörper zum Vorschein kommen, das Mycel des Pilzes oft schon wochen- oder monatelang im Inneren der Wirtspflanze vegetiert und von dem betreffenden Pflanzenteil vielleicht schon zu einer Zeit Besitz ergriffen hat, als derselbe noch lebte. Bei

der Ermittelung, welche Rolle biologisch ungenügend erforschte, an absterbenden Pflanzenteilen auftretende Pilze bei der Erkrankung der betreffenden Pflanzen spielen, stößt man nicht selten auf große Schwierigkeiten, die nur auf experimentellem Wege gelöst werden können. Obwohl über 200 Cystospora-Arten beschrieben worden sind, ist die Lebensweise und Zugehörigkeit vieler von ihnen nur unvollkommen erforscht. Manche Cystospora, so z. B. Cystospora ambiens Sacc., die auf vielen verschiedenen Gehölzen vorkommen soll, ist vielleicht ein Sammelbegriff für mehrere Arten, die allerdings gestaltlich nicht sicher voneinander zu unterscheiden sind. Andererseits sind viele Cystospora-Arten in der Ausgestaltung ihrer Fruchtkörper ziemlich veränderlich, so daß wahrscheinlich manche auf verschiedenen Gehölzen vorkommende Cystospora sich, beeinflußt durch die Beschaffenheit des Substrates, in so ungleicher Weise ausbildet, daß sie unter verschiedenen Namen beschrieben worden ist. Nur auf Grund einer hinreichenden Kenntnis ihres ganzen Entwickelungsganges, ihrer biologischen und gestaltlichen Eigentümlichkeiten, wozu natürlich die einwandsfreie Feststellung der zugehörigen Perithecienform gehört, lassen sich die verschiedenen Pilze artlich bestimmt umgrenzen und auseinanderhalten. Bezüglich des letztgenannten Punktes fällt der Umstand erschwerend ins Gewicht, daß die Entwickelung der Fruchtkörper nicht an eine bestimmte Zeit des Jahres gebunden ist, sondern daß diese vielmehr von dem jeweiligen Zustand des Mycels abhängt und durch die chemische und physikalische Beschaffenheit, besonders den Wassergehalt des Substrats, sowie durch die Witterung bedingt ist, und daß sich ferner Pykniden und Perithecien meist zu verschiedenen Zeiten entwickeln, letztere überhaupt vielfach seltener auftreten.

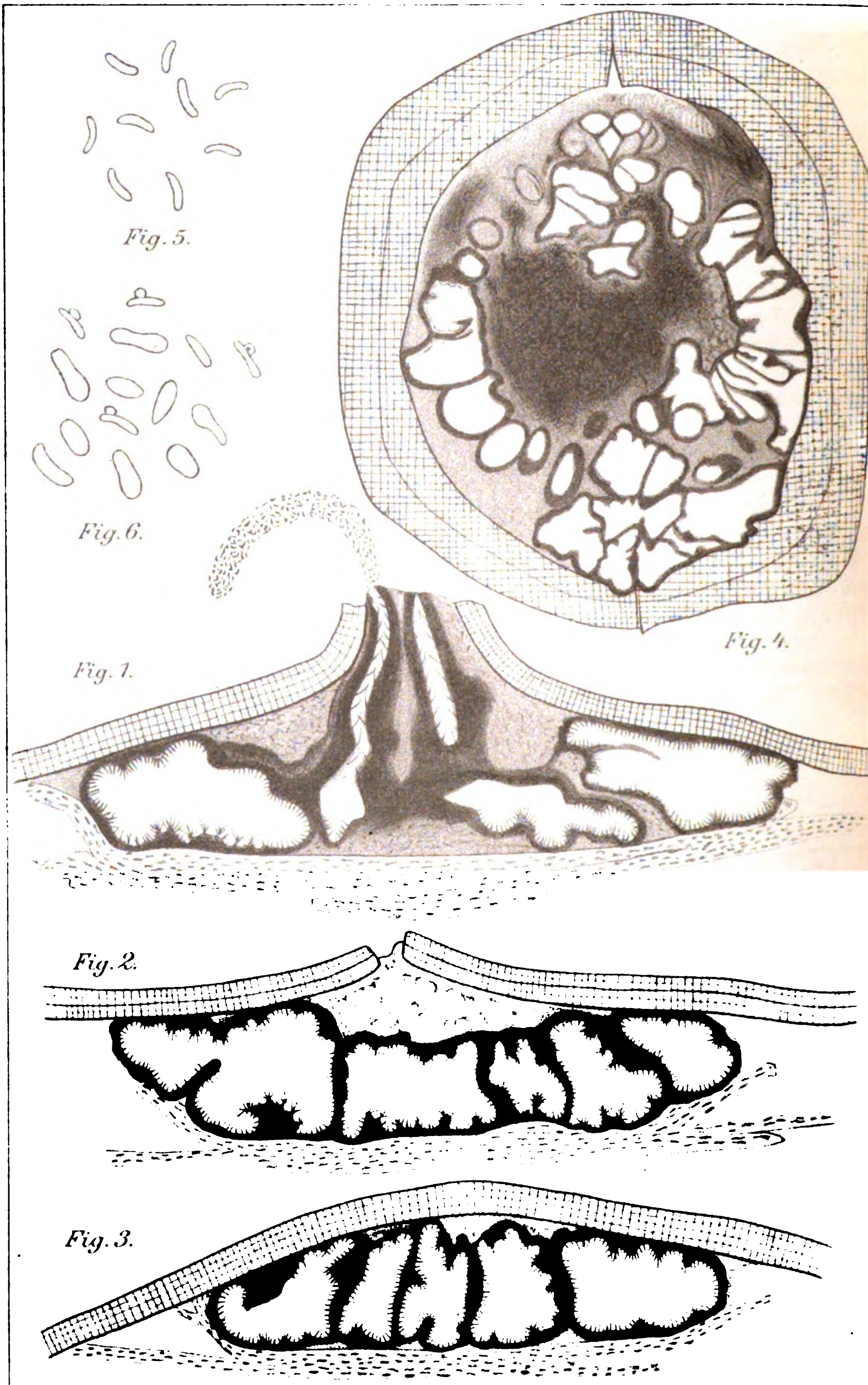
Der in Frage stehende Pilz kennzeichnet sich makroskopisch hauptsächlich durch seine Sporenranken, die an Zweigen von $^1/_4$ bis 1 cm Durchmesser gefunden wurden. Dieselben kommen in der Regel zu 1—3 aus kleinen, quergestellten, ovalen oder rundlichen, hügelartigen oder lenticellenähnlichen Auftreibungen des Periderms hervor, die gleichmäßig über den Zweig verteilt sind. Diese Peridermauftreibungen sind 1—$1^1/_2$ mm breit, in der Querrichtung des Zweiges 1—3 mm lang und $^1/_2$—1 mm hoch und zeigen auf ihrem Scheitel einen kürzeren oder längeren Spalt, der von einer helleren oder dunkleren grauen Masse ausgefüllt ist. Der recht verwickelte Bau der Fruchtkörper, die sich übrigens nicht selten genau unter einer Lenticelle entwickeln — eine Erscheinung, die, nota bene, auch bei anderen Pilzformen, z. B. bei der Micropera und Cytospora der Kirschen, vorkommt — ist aus einem Vergleich von radialen Längs-, Quer- und Tangentialschnitten durch die Rinde der Zweige zu erkennen. Die Fruchtkörper sitzen unmittelbar unter dem Periderm, das sie vorgewölbt und schließlich gesprengt haben, sehen freigelegt äußerlich schwarz aus und haben eine im großen ganzen linsenförmige Gestalt, mit einer etwas stärkeren Verwölbung nach der Außenseite des Zweiges. Beim Abziehen des Periderms bleiben manche Fruchtkörper am Periderm, manche auf der Rinde sitzen. Den weitaus größten

Teil des Fruchtkörpers nehmen mehr oder weniger zahlreiche, große, sich vielfach miteinander vereinigende Höhlungen ein. Diese Höhlungen, die die Pykniden, bezüglich die einzelnen Kammern der Pykniden sind, haben eine Wandung, die aus einem mehrschichtigen, schwärzlichen, in dünner Schicht oft grünlich durchscheinenden, dichten pseudoparenchymatischen Gewebe besteht, dessen dunkel- und ziemlich starkwandige Elemente polyedrisch sind. Die Pyknidenwandungen tragen auf ihrer Innenseite ein Hymenium, das aus langen, senkrecht gestellten Sporenträgern besteht, welche an ihren Enden sehr kleine Konidien abschnüren. Die Sporenträger sind farblos, pfriemförmig, bei 1 μ Dicke 20—30 μ lang, unverzweigt. Einzelheiten derselben sind allerdings schwer zu erkennen, da sie — wie besonders an Präparaten gut zu sehen ist, die in geeigneter Weise (z. B. mit Fuchsin) gefärbt wurden — von einer schleimigen Masse umgeben sind. Ob diese ausschließlich aus gallertartig verquollenen Sporenträgern oder auch durch teilweises Verquellen der Sporenmembranen entstanden ist, ist unentschieden. Die winzigen Sporen, die sich in ungeheueren Mengen im Präparat finden, sind farblos, einzellig, stäbchenförmig, aber etwas gekrümmt, also wurstförmig, $1—1^1/_2$ μ breit und $5—7^1/_2$, nur ausnahmsweise bis 9, meist 6—7 μ lang. Die Mündungskanäle der Pykniden bekommt man nur selten deutlich zu sehen. In Uebereinstimmung mit der Anzahl der Sporenranken hat jeder Fruchtkörper in der Regel 1—3 Mündungskanäle. Ihre Wände sind von gleichem Aussehen wie die Wandung der Pykniden. Auf ihrer Innenseite tragen sie kein Hymenium, sondern lange, nach oben gerichtete Hyphen, die als Periphysen anzusehen sind. Derartige Periphysen sind bei anderen Cytospora-Arten meines Wissens nicht beobachtet worden. Im Gegensatz zu den dicht-pseudoparenchymatischen, schwarzen Wandungen der Pykniden und ihrer Mündungskanäle besteht der übrige, sich zwischen den einzelnen Pykniden und dem Periderm befindliche, sterile Teil des Fruchtkörpers aus einer grauen, teils helleren, teils dunkleren, anscheinend etwas körnigen Masse, deren Struktur sich nur an sehr dünnen und aufgehellten Schnitten ermitteln läßt. An solchen erkennt man, daß der sterile Teil des Fruchtkörpers hauptsächlich aus einem ziemlich lockeren Geflecht von dünnen Hyphen besteht, deren Zwischenräume von unzähligen kleinen, eckigen Körperchen ausgefüllt sind, die aus oxalsaurem Kalk bestehen dürften. Sie lösen sich bei Zusatz von verdünnter Salzsäure und verdünnter Schwefelsäure, wobei säulen- und nadelförmige Kristalle entstehen. Außerdem finden sich in der sterilen Fruchtkörpermasse hie und da einzelne, braune Einschlüsse, die übrig gebliebene, vom Pilz völlig umwucherte, zusammengedrückte, tote Zellen des Rindenparenchyms sind. Im Gegensatz zu vielen anderen Cytospora-Arten wird eine besondere, festere, hornige Grenzschicht, die den ganzen Fruchtkörper von dem Rindegewebe abgrenzt, nicht ausgebildet. Auch kann von einer deutlichen Gliederung in ein voneinander getrenntes und abgegrenztes Ekto- und Entostroma — wenigstens an reifen Fruchtkörpern — nicht wohl die Rede sein. Die sterilen Teile des Fruchtkörpers können zwar stellenweise

eine etwas dichtere, zellenartige und dunkler gefärbte Beschaffenheit annehmen, bestehen aber in der Regel und zum größten Teil, wie bereits gesagt wurde, aus einem lockeren, nicht pseudoparenchymatischen Hyphengeflecht mit reichlicher Kristallablagerung. Sehr zahlreiche, drusenartige Kristalle von etwa 10 μ Durchmesser sieht man übrigens auch in dem toten, gelockerten und vom Pilz durchwucherten Rindengewebe und zwar besonders in den von zahlreichen Hyphen durchzogenen Zwischenräumen, die sich zwischen den einzelnen, voneinander getrennten Zellschichten des Rindenparenchyms finden. Die hier in der Rinde intercellular wachsenden Hyphen sind farblos, 2—4 μ dick, septiert und ziemlich reich verzweigt. Im Holz, das aus ziemlich dickwandigen und englumigen Elementen besteht, wurden Hyphen nicht nachgewiesen. Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß — und zwar in Fruchtkörpern, die durchaus noch nicht überreif sind — sehr häufig einzelne, sterile Pilzfäden aus dem Hymenium in den Hohlraum der Pykniden hereinwachsen. Ganz alte Sporenbehälter von Valseen findet man bekanntlich oft ganz von hereingewucherten Hyphen angefüllt. — Die aus den Fruchtkörpern hervorquellenden Sporenranken können ein paar Millimeter lang werden. Sie nehmen an der Luft eine hornige, spröde Beschaffenheit und eine durchscheinende, bernstein- oder goldgelbe Farbe an. Die dünnsten Ranken sind von mehr weißlicher Farbe. Bei Benetzung durch Regen verquillt jede Ranke zu einem weißlichen, beziehentlich milchweißen Schleimtröpfchen, das beim Eintrocknen gelblich wird. Aus Zweigen, die von der Cytospora befallen, in einem feuchten Raum aufbewahrt und mit Schleimtröpfchen bedeckt waren, und zur Aufbewahrung in starken Alkohol gesetzt wurden, kamen im Laufe 1 Stunde die Sporenmassen in Form von haardünnen, weißen Fäden heraus, die über 5 cm lang wurden. Die Auspressung der Sporen wurde hier offenbar durch das durch den Alkohol hervorgerufene Zusammenschrumpfen der Pyknidien bewirkt.

Eine zugehörige Perithecienform, die wohl eine Valsacee, vielleicht eine Euvalsa sein dürfte, konnte bis jetzt nicht aufgefunden werden.

Die soeben beschriebene Cytospora ist von anderen, nahe verwandten Pilzformen, die auf Ribes-Arten gefunden wurden, unschwer zu unterscheiden. Cytospora flavo-virens Sacc. (auf Ribes und vielen anderen Gehölzen vorkommend) hat anders gebaute, innen gelbgrüne Fruchtkörper und fast sitzende Konidien. Cytospora Ribis (Ehrenb.) Sacc. (auf Ribes rubrum, Grossularia, alpinum) hat ästige Sporenträger und bedeutend kleinere, 3 μ lange Konidien. Cytospora ocellata Fuck. (auf Ribes rubrum und Haselnuß) hat eine schneeweiße Scheibe, wirtelästige Sporenträger und kleinere, in schwarzpurpurnen Ranken austretende Konidien. Auch mit Cytosporina Ribis P. Magnus, dem von van Hall gefundenen Krankheitserreger der Johannisbeer- und Stachelbeersträucher, stimmt der hier besprochene Pilz nicht überein, da ersterer außen behaarte Fruchtkörper und fadenförmige, 33 μ lange Sporen haben soll.



Laubert gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena

Wegen seines Vorkommens mag der Pilz den Namen Cytospora Grossulariae führen.

Diagnose: Cytospora Grossulariae Laubert. Stroma mehr oder weniger linsenförmig, $1^1/_2$—3 mm breit, $^1/_2$—1 mm hoch, schwärzlich, mit hell- bis dunkelgrauer, wenig sichtbarer Scheibe hervorbrechend, beim Abziehen des Periderms entweder diesem oder dem Rindenparenchym anhaftend, hauptsächlich aus grauem, sehr reichliche Kristallablagerung enthaltendem, verhältnismäßig lockerem Hyphengeflecht bestehend, vom darunterliegenden Rindenparenchym nicht durch eine besonders ausgebildete, dichtere Schicht abgegrenzt. — Pykniden aus zahlreichen, miteinander vereinigten Kammern zusammengesetzt, mit schwärzlicher, in dünner Schicht oft grünlicher, pseudoparenchymatischer Wandung. Mündungskanäle Periphysen enthaltend. — Konidienträger pfriemförmig, farblos, 1 μ dick, 20—30 μ lang, unverzweigt. — Konidien 1-zellig, farblos, stäbchenförmig, etwas gekrümmt, also wurstförmig, 1—$1^1/_2$ μ breit, 5—$7^1/_2$, ausnahmsweise bis 9, meist 6—7 μ lang. — Konidien aus jedem Stroma in 1—3 goldgelben Ranken austretend. — Vegetatives Mycel in den Zwischenräumen des Rindenparenchyms, sehr zahlreiche, kleine Kristalldrusen abscheidend, aus septierten, ziemlich reich verzweigten, 2—4 μ dicken, farblosen Hyphen bestehend.

Vorkommen: an dicken und dünnen Aesten und Zweigen der Stachelbeere; vielleicht parasitär. — Fundort: Dahlem bei Berlin. März 1904.

Tafelerklärung.

Eine Beifügung von Habitusbildern des Cytospora-Stromas dürfte deshalb besonders erwünscht sein, weil die vorhandenen Cytospora-Abbildungen (z. B. in Rabenhorsts Kryptogamenflora und Engler und Prantls Natürlichen Pflanzenfamilien) mit sehr wenig Ausnahmen uncharakteristisch und wertlos sind.

Fig. 1—3. Querschnitte durch ein Cytospora-Stroma (radiale Längsschnitte durch die Rinde des Zweiges) oben vom Periderm, unten vom Rindenparenchym begrenzt. Alle 3 Schnitte stammen aus ein und demselben Stroma.

Fig. 1. Medianer Querschnitt mit einer Sporenranke.

Fig. 2 und 3. Seitliche Querschnitte.

Fig. 4. Tangentialer Schnitt durch ein Cytospora-Stroma. Das Stroma ist ringsum vom Periderm umgeben. Hier sind in den Pyknidenkammern die Sporenträger nicht mit eingezeichnet.

Fig. 5. Konidien der Cytospora.

Fig. 6. Konidien, die 4 Tage auf dem Objektträger in Nährlösung (Zuckerwasser) gelegen haben.

Berlin-Steglitz, den 1. April 1904.

Nachdruck verboten.

Infektionsversuche mit einigen Uredineen.

II. Bericht (1903) [1].

Von Prof. Dr. **Fr. Bubák** (Tábor in Böhmen).

Im Jahre 1903 habe ich wieder mit einer Reihe von Uredineen Infektionsversuche durchgeführt. Im ganzen unternahm ich 114

1) I. Bericht s. d. Centralbl. Bd. IX. 1902. p. 913—928.

Infektionen, von welchen hier aber nur einige veröffentlicht werden und zwar diejenigen, bei welchen positive oder negative Resultate zweifellos sind. Alle Infektionen wurden im Zimmer unter Glasglocken durchgeführt.

Ueber zwei gelungene Infektionen habe ich schon früher vorläufige Berichte publiziert und zwar in diesem Centralblatte[1]) über den genetischen Zusammenhang eines Aecidiums von Adoxa moschatellina L. mit Puccinia argentata (Schultz) Winter auf Impatiens noli tangere und in den Berichten der deutschen botan. Gesellschaft in Berlin[2]) über die Entdeckung der Teleutosporen und Aecidien von Uredo Symphyti DC.

1. Der Wirtswechsel von Puccinia argentato (Schultz) Winter, und die auf Adoxa moschatellina L. auftretenden Uredineen[3]).

Seit dem Jahre 1900 konnte ich in Böhmen öfters Puccinia argentata in Gesellschaft mit einem Aecidium auf Adoxa moschatellina beobachten. Anfangs legte ich diesem Umstande keine Bedeutung bei, erst als ich im Jahre 1902 wiederholt beide genannten Pilze oder das Aecidium mit Impatiens noli tangere auf denselben Lokalitäten angetroffen habe, wurde mir die Sache verdächtig und ich entschloß mich mit dem Aecidium Infektionsversuche durchzuführen.

Gelegenheit dazu fand ich hier in Tábor, wo ebenfalls die Aecidien zusammen mit Impatiens-Pflanzen gefunden wurden.

Da sich an dem Standorte des Adoxa-Aecidiums im Pintovka-Walde auch Luzula pilosa befand, auf welcher — wie bekannt — Pucc. oblongata, mit bisher unbekanntem Wirtswechsel vorkommt, so zog ich auch diese Juncacee zu den Versuchen herbei.

Die Impatiens-Pflanzen wurden aus einem weit entfernten Bachtälchen genommen, wo keine Adoxa zu finden war und wo ich auch später im Sommer und Herbst bei wiederholten Besuchen, auf dem daselbst wachsenden Springkraut nie Puccinia argentata gesehen habe.

Die Versuchspflanzen waren sämtlich etwa 1 dm hohe Individuen, die am 10. Mai zu 4 in jeden Topf gesetzt wurden. Am 19. Mai, als sich die Pflanzen vollkommen erholt hatten, wurde die Infektion durchgeführt und zwar

auf 3 Töpfen mit Impatiens noli tangere,
„ 2 „ „ Adoxa moschatellina und
„ 2 „ „ Luzula pilosa.

Drei andere Töpfe mit Impatiens standen in einem verschlossenem Fenster seitwärts als Kontrollpflanzen.

Die Aecidiosporen von Adoxa wurden auf die Blätter aller Versuchspflanzen mittelst eines feinen Pinsels aufgetragen und

1) Bubák, Ein neuer Fall von Generationswechsel zwischen zwei, dikotyledone Pflanzen bewohnenden Uredineen. l. c. Bd. X. 1903. p. 574.

2) Bubák, Uredo Symphyti DC. und die zugehörige Teleutosporen- und Aecidienform. l. c. Bd. XXI. (1903). Heft 6.

3) Literaturverzeichnis ist am Ende der Abhandlung beigefügt.

außerdem noch aecidientragende Adoxa-Blätter auf die Pflanzen gelegt.

Die Versuchspflanzen wurden dann zwei Tage unter Glasglocken feucht gehalten.

Am 29. Mai konnte ich an allen Impatiens-Pflanzen[1], die infiziert wurden, kleine, rundliche, von silberglänzenden Epidermis bedeckte Uredolager bemerken, die sich am 31. Mai öffneten.

Am 2. Juni zeigten sich in einigen Uredohäufchen auch zahlreiche Teleutosporen und am 3. Juni nahmen dieselben schon überhand, so daß sich die Uredolager gänzlich schwarzbraun verfärbten.

Die zuerst gebildeten Uredolager stehen auf gelblichen, oberseits nabelartig vertieften, kleinen Flecken und sind beträchtlich größer (0,6—0,9 mm) als die späteren, welche sich kreisförmig um jene, aus demselben Mycel, entwickeln. Ihr Durchmesser beträgt nur 0,2—0,4 mm und oft fließen sie halbkreisförmig zusammen.

Die Bildung dieser kleinen, ringförmig gestellten Uredolager wurde erst am 8. Juni beobachtet und auch in ihnen entstanden in kurzer Zeit Teleutosporen, welche sich freilich später auch in ganz selbständigen Lagern entwickelten.

Die Inkubationsdauer von der Infektion bis zur Ausbildung der Uredolager beträgt also 10 Tage.

Alle drei Kontrollpflanzen, wie auch Luzula und Adoxa blieben vollkommen pilzfrei.

Der zweite Versuch wurde an den drei erwähnten Kontrollpflanzen vorgenommen. Sie wurden am 1. Juni in ähnlicher Weise mit Aecidiosporen von Adoxa infiziert und zwei Tage hindurch feucht gehalten.

Der Effekt erschien am 9. Juni, also nach 8 Tagen. Am 12. Juni waren die Uredolager schon entblößt und von ausgebildeten Teleutosporen auch gebräunt.

Durch diese Versuche wurde also festgestellt, daß Puccinia argentata genetisch mit einem Aecidium auf Adoxa moschatellina zusammenhängt.

In folgenden Zeilen entwerfe ich die Diagnose des durch Infektion erhaltenen Pilzes:

Uredolager unterseits klein, bald nackt, ockerfarben bis hellzimmtbraun, staubig; Sporen kuglig oder eiförmig, 17,6—24,2 μ lang, 15,4—19,8 μ breit, mit gelblicher bis hellkastanienbrauner, 2 μ dicker, entfernt kurzstachliger Membran und 3—5, normal aber mit 4 Keimsporen.

Teleutosporenlager auf gelblichen oder bräunlichen Flecken unterseits sitzend, zerstreut, halbkreisförmig oder kreisförmig, bald nackt, öfters zusammenfließend, staubig, dunkelkastanienbraun. Teleutosporen eiförmig, ellipsoidisch bis länglich, 24,2—37,4 μ lang, 13,2—22 μ breit, beiderseitig abgerundet oder verjüngt, in der Mitte nicht oder nur schwach eingeschnürt, am Scheitel oder ein wenig seitwärts mit flacher oder kegelförmiger, hyaliner Papille, mit hellkastanienbrauner, glatter Membran; Stiel zart, hyalin, vergänglich, so lang oder kürzer als die Spore.

Aus der Vergleichung dieser Diagnose mit allen bisher publizierten Beschreibungen von Puccinia argentata (Corda, Icones IV, p. 16, Tab. V, Fig. 57, Winter (1,4), Schroeter (2,340), Plowright (3,193), De Toni (4,639), Sydow (5,450) ergibt sich, daß der in Kultur erzogene Pilz nichts anderes als Puccinia argentata ist. Ich habe ihn auch außerdem mit vielen Exsiccaten aus Böhmen, Mähren, Niederösterreich, Ungarn, Deutschland, Schweden und Rußland verglichen und gefunden, daß er von diesen nicht im Geringsten abweicht.

Mehr verwickelt sind aber die Verhältnisse des Adoxa-Aecidiums.

Aus allen in der Natur von verschiedenen Autoren gemachten Beobachtungen geht hervor, daß an einem Teile der Lokalitäten auf Adoxa nur eine Micropuccinia vorkommt, an anderen werden wieder nur Aecidien gefunden, an einigen treten endlich beide Formen zugleich auf, gewöhnlich aber auf verschiedenen Individuen. An diesen zuletzt genannten Standorten sollen sich auch Uredosporen ausbilden. Besonders hebe ich den Umstand hervor, daß in Nordamerika, nach Dietel (6,402), das Aecidium viel verbreitet ist (auch Puccinia argentata!), während die Teleutosporen auf Adoxa bisher nur einmal gefunden wurden.

Aus diesen Verhältnissen kann deduziert werden, daß es sich um drei verschiedene Species handelt, nämlich um

1. eine Micropuccinie,
2. eine Auteupuccinie und
3. ein isoliertes Aecidium.

Dietel, welcher (l. c.) ebenfalls diese Verhältnisse erwogen hat, ist zu demselben Schlusse gelangt. Er vereinigt aber (per analogiam mit Uromyces Trifolii) nicht nur die ersten zwei Formen, sondern auch das Aecidium zu einziger Art — Puccinia Adoxae DC. — und zwar auf Grund der Infektionsversuche von Schroeter (7,75), Soppitt (3,154, 208), und Plowright (3, l. c.) Speziell was das Aecidium betrifft, äußert sich Dietel (l. c.) folgenderweise: „Es ist nicht wahrscheinlich, daß wir es hier mit einem zweiten, zu einer heterözischen Art gehörigen Aecidium zu tun haben, vielmehr ist anzunehmen, daß die Aecidiumform im stande ist, sich selbständig zu erhalten und fortzupflanzen."

Seinem Beispiele folgt neuerdings Sydow (5,203) indem er auch nur eine einzige Art annimmt.

Was meine eigenen Beobachtungen im Freien betrifft, so habe ich in Böhmen und Mähren bisher nie Aecidien und Teleutosporen zusammen auf denselben Standorten gefunden. Nur Herr Direktor Kabát (8, 12, 16) fand im Weltruser Parke (Böhmen) beide Formen zusammen — aber auch in Gesellschaft von Puccinia argentata, welche daselbst schon von Corda (Icones fungorum IV, p. 16) gefunden wurde und teilweise zur Aufstellung seiner Puccinia Noli tangeris diente.

Nach meinen bisherigen Kenntnissen wurden also in Böhmen bisher nur die Micropuccinia und das zu Puccinia argentata zugehörige Aecidium gesammelt.

Auch in anderen Ländern, wie aus den betreffenden Literaturangaben hervorgeht, sind fast durchwegs ebenfalls nur die zwei erwähnten Formen verbreitet.

Die Auteupuccinia ist bisher, wie weiter unten näher erläutert wird, mit Sicherheit nur von zwei Lokalitäten bekannt.

Was das isolierte Aecidium betrifft, welches, wie ich nachgewiesen habe, zu Puccinia argentata gehört, so kann ich Folgendes mitteilen. Ich übersetzte zwei aecidientragende Adoxa-Pflanzen in einen Blumentopf. Das Mycel war zuerst auf den Blattspreiten lokalisiert, nach und nach drang es aber auch in die Blattstiele ein und es wurden endlich gut entwickelte Aecidien dicht über dem Boden beobachtet. Die Pflanzen waren also erst frisch infiziert und das Mycel drang sichtlich durch die Blattstiele in den unterirdischen Teil ein. Ich habe zwar den Wurzelstock nicht näher untersucht, da ich keine von den beiden Pflanzen opfern wollte, ich zweifle aber nicht im mindesten, daß dieses Aecidium ein perennierendes Mycel besitzt, denn auf anderen infizierten Pflanzen, die ich für das Herbar eingelegt habe, fand ich, daß auf den Blattstielen oft viel ältere und entwickeltere Pseudoperidien saßen als auf der Blattspreite, wo ebenfalls auf der Basis ganz reife Aecidien zu finden waren, während diejenigen, welche der Spitze näher lagen, noch klein und geschlossen waren. In diesen Fällen handelt es sich also nicht um frische, sondern um eine ältere, wenigstens schon vor einem Jahre stattgefundene Infektion.

Definitiv wird diese Frage im Frühjahre auf den zwei erwähnten überwinterten Adoxa-Pflanzen entschieden.

Hier folgt die Diagnose des Aecidiums: Mycel perenniert in dem Wurzelstock und dringt im Frühjahre schnell durch die Blattstiele oder durch den Stengel, die dabei schwach verdickt werden, in die Blattspreiten, welche sich gelblichweiß verfärben und ebenfalls fleischiger werden. Bei frischer Infektion dringt das Mycel allmählich wieder umgekehrt aus den Blattspreiten durch den Blattstiel oder den Stengel in den Wurzelstock, wobei wieder dieselben Verdickungen der befallenen Partien zustande kommen.

Pykniden klein, 100—180 μ breit, honiggelb, zwischen den Aecidien auf der Unterseite der Blätter zerstreut.

Pseudoperidien auf der Unterseite der Flecken ziemlich gleichmäßig verbreitet, an den Blattstielen und Stengeln entfernter, weiß, anfangs halbkugelig gewölbt, durch ein zentrales rundliches Loch sich öffnend, endlich mit ziemlich breit umgeschlagenem, tief zerschlitztem Rande, $^1/_4$—$^1/_2$ mm im Durchmesser. Pseudoperidienzellen in fast regelmäßigen Längsreihen, im Zusammenhange von eckigem oder länglichem Umriß, mit feinwarziger, hyaliner Membran, auf der Außenseite 7—11 μ verdickt, daselbst von stäbchenförmiger Struktur.

Sporen polygonal-kuglig oder polygonal-eiförmig, 17,6—22 μ lang, 13,2—19,8 μ breit, mit hyaliner, feinwarziger Membran und goldgelbem Inhalt.

Die Entwickelung des Aecidiums fällt in die Zeit von Mitte April bis Ende Mai, in höheren Lagen wird es noch anfangs Juni gefunden.

Die von mir entworfene Diagnose deckt sich vollständig mit derjenigen von Winter (1,211), Schroeter (2,320), De Toni (4,612), Sydow (5,203) und es ist möglich, daß diesen Autoren nur dieses isolierte Aecidium vorlag. Speziell was Schroeter betrifft, ist diese Annahme vollständig berechtigt, denn er hebt expreß hervor (2,320), daß in Schlesien Uredo nicht konstatiert wurde, Aecidium und Puccinia auf verschiedenen Pflanzen und gewöhnlich an gesonderten Orten. An einer anderen Stelle (7,76) teilt derselbe Autor mit, daß in der Umgegend von Breslau z. B. an einem Bachufer bei Sibyllenort das Aecidium viele Jahre hintereinander weit verbreitet gefunden wurde, doch nie die Puccinia. Infektionsversuche wurden vor mir mit diesem isolierten Aecidium nicht ausgeführt, denn in beiden Fällen, bei welchen Adoxa-Aecidien als Infektionsmaterial gebraucht wurden, handelte es sich um eine Form, die zu der erwähnten Auteupuccinia gehört, und als Resultat erschien auch demgemäß in beiden Versuchen — Uredo auf Adoxa.

Daß das isolierte Aecidium nicht im Stande ist, sich selbständig zu erhalten und fortzupflanzen, geht ebenfalls aus meinen Versuchen hervor, denn beide Adoxa-Pflanzen, die reichlich mit Aecidiosporen bestreut wurden, blieben vollkommen pilzfrei.

Schon vor mir, wie ich mich soeben überzeuge, kam es auch Schroeter (7,76) verdächtig vor, daß in Schlesien das Adoxa-Aecidium isoliert vorkommt und, wenigstens in der Umgegend von Breslau, in der Nachbarschaft von Puccinia argentata.

Er entschloß sich deshalb mit diesem Aecidium Infektionsversuche durchzuführen. Leider benützte er dazu nicht schlesisches Material, sondern er führte die Versuche erst im Jahre 1876 zu Rastatt aus, also mit badischem Material.

Die Infektion auf Impatiens blieb ohne Erfolg, dagegen verlief sie auf Adoxa-Blättern positiv.

Auf der Unterseite der Adoxa-Blätter traten zerstreute, kleine, rundliche Pusteln auf, von einem kreisförmigen, weißlichen Flecke umgeben. Die Pusteln enthielten gut ausgebildete Uredosporen, die einen hellbräunlichen Staub bildeten. Die Uredo-Häufchen boten durch ihr isoliertes Auftreten, ihre helle Farbe und den weißlichen Hof, der sie umgab, ein, von dem gewöhnlichen Auftreten der Puccinia Adoxae ganz verschiedenes Ansehen. Eine Zeit lang wurde nur Uredo in den Häufchen gebildet, später aber auch reichliche Teleutosporen, die sich von den gewöhnlichen Sporen, die sich aus einem, die ganze Pflanze durchziehenden Mycel entwickeln, nicht unterschieden.

Die Entwickelung des Pilzes im Freien war dieselbe, nur trat sie etwas später ein.

Im Frühjahre 1877 suchte Schroeter die Stelle wieder auf und fand wieder das gleiche Verhalten des Pilzes. Schon anfangs März erschienen an Stengeln und Blättern Spermozonien, bald darauf die Aecidien über die ganze Pflanze verbreitet. Anfangs April waren, zumeist an solchen Blättern, die keine Aecidien trugen, aber auch an solchen, die teilweise mit diesen besetzt waren, die Uredo-

häufchen zu finden, in denen sich jetzt bald Puccinia-Sporen bildeten. Daß nur mit Puccinia-Sporen erfüllte Häufchen gleichzeitig mit dem ersten Auftreten der Aecidien oder vor dem Uredo aufgetreten wären, hat Schroeter nie gesehen.

Durch diese Versuche und Beobachtungen stellte also Schroeter fest, daß auf Adoxa moschatellina eine Auteupuccinia vorkommt, deren Aecidium ein die ganze Pflanze durchziehendes Mycel besitzt, die Uredo- und Teleuto-Sporenform sich aber auf einem lokal begrenztem Mycel entwickeln.

Schroeters Versuche wurden im Jahre 1888 von Soppitt wiederholt. Nach Plowright (3,154) erzielte der genannte Mykologe durch Aussaat der Aecidiensporen auf Adoxa, im Juni Uredo- und Teleutosporen. Dadurch wurde die Richtigkeit der Schroeterschen Versuche bestätigt.

Wir kennen also bisher sicher nur zwei Standorte von dieser Auteupuccinia; der eine liegt bei Rastatt in Baden, der andere in England, wohl bei Halifax (Soppits Wohnstätte).

Aus Autopsie kenne ich diesen Pilz nicht und deswegen ist es mir nicht möglich eine selbständige, ausführliche Diagnose zu entwerfen. Ich stelle dieselbe also zusammen aus den Diagnosen von Schroeter (Uredo), Winter (Uredo) und Plowright.

Was die Aecidien anbelangt, so ist es sehr nötig, dieselben neu zu beschreiben und sie mit dem isolierten Aecidium zu vergleichen. Ihre Beschreibung bei Plowright (3,153) ist nicht vollkommen. Auf den ersten Blick sieht man aber doch, daß sie von dem erwähnten Aecidium durch farblose (colourless) Sporen abweichen. Ob dieser Auteupuccinia wirklich der Name Puccinia albescens (Grev.) gebührt, das könnte wohl nur auf Grund des Originales von Aecidium albescens Grev. oder verläßlicher noch am Originalstandorte desselben entschieden werden.

Ich akzeptiere vorläufig diesen Namen, da er auch mit den „farblosen“ Sporen im Einklange steht.

Puccinia albescens (Grev.) Plowright. (Pucc. Adoxae Autt. p. p.) Aecidium: Mycel durchzieht die ganze Pflanze und überwintert in dem Wurzelstock. Pykniden und Aecidien sind über die ganze Pflanze verbreitet. Pseudoperidien kurz, weißlich, mit gezähntem Rande, auf bleichen Flecken auf den Stengeln, Blattstielen, Blattspreiten und Blüten. Sporen rundlich, farblos, 15—22 μ im Durchmesser.

Uredo: Mycel lokalisiert; die Lager klein, rundlich oder länglich, auf der Blattunterseite zerstreut, vom weißlichen Hofe umgeben, lange von der Epidermis bedeckt, endlich entblößt, hellbräunlich bis zimmtfarbig, staubig; Sporen sehr verschieden geformt, ellipsoidisch, eiförmig, oder fast rundlich, hellbraun, 20—32 μ lang, 16—21 μ breit, mit ockerfarbener, sehr reichlich und regelmäßig mit zugespitzten Stacheln besetzter Membran, und farblosem Inhalt.

Teleutosporen: Mycel lokalisiert; Lager klein,

rund, zerstreut; Sporen oft in den Uredolagern entwickelt, selten zusammenfließend, lange von der Epidermis bedeckt, spindelförmig oder ellipsoidisch, auf beiden Enden verjüngt, am Scheitel oft mit einer hyalinen Papille, in der Mitte leicht eingeschnürt, glatt, braun, 34—40 μ lang, 18—25 μ breit; Stiel kurz, hyalin, leicht abbrechend.

Puccinia albescens (Grev.) Plowright ist gegenüber Pucc. Adoxae DC hauptsächlich durch ihre Biologie (Autenpuccinia) und das lokalisierte Mycel der Telentosporen vortrefflich charakterisiert. Wären alle diese Merkmale von den Autoren näher studiert worden, so wäre es zur Vereinigung dieser zuerst von Plowright unterschiedenen Arten, niemals gekommen.

Die Entwickelung des Aecidiums von Puccinia albescens fällt nach Schroeter (7) schon in die erste Hälfte d. M. März, in England muß es, wie aus Soppitts Versuchen hervorgeht, noch Mitte Mai in voller Entfaltung stehen.

Endlich möchte ich noch auf einen Umstand aufmerksam machen, nämlich auf die große Uebereinstimmung der Puccinia argentata und Pucc. albescens, welche besonders im Habitus aller drei Generationen, in der Farbe der Uredo- und Teleutosporenlager, wie auch in der Form und Farbe derselben Sporen zu Tage tritt.

Beide Arten divergieren, außer ihrem biologischen Verhalten, nur in der Farbe der Aecidiosporen und in der Größe der Uredo- und Teleutosporen.

Nach allen dem, was bisher angeführt wurde, ist weiter ersichtlich, daß die dritte Adoxa-Uredinee — Puccinia Adoxae DC eine Mikroform ist.

Durch Infektionsversuche wurde dies (nach Plowright) von Soppitt (3,208) im Jahre 1888 bewiesen. In Keimung begriffene Teleutosporen dieser Art wurden auf Blätter von Adoxa übergetragen. Nach zehn Tagen erschienen Teleutosporen, ohne daß sich Aecidien und Uredosporen entwickelt hätten.

Plowright (3,208) fand, daß das Mycel dieser Art im Wurzelstock perenniert, denn dieselben Pflanzen zeigten in der Kultur Jahr für Jahr Teleutosporen.

Man kann auch allerdings auf frischem oder getrocknetem Materiale leicht konstatieren, daß das Mycel aus dem Wurzelstock in die Blattstiele, in den Stengel und dann in die Blattspreiten dringt und überall Teleutesporenlager entwickelt. Auf anderen Individuen findet man wieder nur frische Infektion, die Lager stehen dann auf gelblichen, rundlichen Flecken und sind nur aus einem lokalisiertem Mycel entstanden. Manchmal findet man auf denselben Pflanzen beiderlei Infektion. Pykniden konnte ich nicht finden, es ist aber möglich, daß sie auf jüngerem Material vorkommen.

Die Diagnose von Puccinia Adoxae DC. (Pucc. Adoxae Autt. p. p.) ist folgende:

Micropuccinia. Sporenlager entstehen entweder aus einem perennierenden Mycel und sind dann ziemlich gleichmäßig über die

Stengel, Blattstiele und kleinere oder größere Partien der Blattspreiten verbreitet, oder sie gehen aus einem frisch entstandenen Mycel hervor und stehen auf rundlichen oder länglichen bleichen Flecken, gewöhnlich in kreisförmiger Anordnung.

Sporenlager klein, rundlich oder elliptisch, oft zusammenfließend, von silbergrauer Epidermis bedeckt, bald nackt, dunkelkastanienbraun, staubig.

Sporen eiförmig, ellipsoidisch bis spindelförmig, 28,6—44 μ lang, 17,6—22 μ breit, beiderseitig abgerundet oder verjüngt, in der Mitte schwach oder gar nicht eingeschnürt, in beiden Zellen mit breit geöffneten Keimporen, welche von hyalinen, kräftigen, breit abgerundeten, seltener etwas kugelförmigen, 2—4,5 μ hohen, 6—9 μ breiten Papillen bedeckt. Papille der Scheitelzelle scheitelständig, seltener seitwärts verschoben, jene der Basalzelle gewöhnlich auf der Querwand oder dicht bei derselben, seltener $^1/_3$ herabgerückt. Membran kastanienbraun, glatt 2 μ dick. Stiel 20—35 μ lang, zart, hyalin, leicht abbrechend.

Die Entwickelungszeit fällt nach meinem Materiale in die zweite Hälfte des April bis Anfang Juni.

Nach Plowright erscheint der Pilz in England schon im März.

Resumé:

Aus allen hier angeführten Infektionsversuchen und Beobachtungen ergibt sich, daß auf Adoxa moschatellina drei Uredineen vorkommen:

1) Ein isoliertes Aecidium, welches zu Puccinia argentata (Schultz) Winter gehört und perennierendes Mycel besitzt.

2) Eine Micropuccinia — Pucc. Adoxae DC. — ebenfalls mit perennierendem Mycel.

3) Eine Auteupuccinia — Pucc. albescens (Grev.) Plowright — deren Aecidiummycel perenniert, jenes der Uredo- und Teleutosporen aber nur lokalisiert ist.

2) Puccinia longissima Schroeter.

Im IX. Band (1902) dieses Centralblattes habe ich auf p. 919 bis 924 über meine Kulturversuche referiert, durch welche ich nachgewiesen habe, daß Endophyllum Sedi (DC.) ein Aecidium ist, und daß es genetisch mit Puccinia longissima Schroet. auf Koeleria-Arten verbunden ist.

Infektionsversuche mit Sporidien konnte ich erst im Jahre 1903 durchführen. Die Teleutosporen, welche verwendet wurden, stammten von Koeleria gracilis und wurden in den Elbauen bei Hradisko nächst Sadská (Böhmen) im Herbst 1902 gesammelt. Am 30. Mai wurden teleutosporentragende Koeleria-Blätter auf Topfpflanzen von Sedum telephium, rupestre und boloniense gelegt. Die Versuchspflanzen wurden dann wie gewöhnlich unter Glasglocken feucht gehalten. Nach 4 Tagen wurden die Glocken weggenommen. Am 13. Juni erschienen Spermogonien, und zwar nur auf Sedum boloniense, am 22. Juni zeigten sich erste geöffnete Pseudoperidien.

Die zwei anderen Sedum-Arten blieben pilzfrei. Die einzelnen Triebe von Sedum boloniense wurden gewöhnlich im oberen Teile infiziert. Bei der weiteren Entwickelung des Aecidiums bemerkte ich, daß das Mycel allmählich in niedergelegene Partien drang, so daß immer alle Blätter eines Triebes vom Mycel durchdrungen waren und auf ihrer Oberfläche überall Pseudoperidien trugen. Es ist demnach nicht unmöglich, daß das Aecidium-Mycel perenniert. Ich habe die infizierten Pflanzen aufbewahrt, so daß ich diese Frage im Frühjahre entscheiden können werde. Einen Teil der erzogenen Aecidien benützte ich zur Rückinfektion. Dies geschah am 18. Juli auf Koeleria glauca (Keimpflanzen). Am 28. Juli erschienen auf den Blättern geschlossene Uredolager.

3) Puccinia Sesleriae Reich.

Mit vollständig keimfähigem Materiale dieser Art habe ich am 12. Juni Prunella grandiflora, Plantago lanceolata, Galium Mollugo, verum, Geranium molle und pusillum bestreut.

Es erschien aber auf keiner der genannten Versuchspflanzen irgend ein Effekt.

4) Puccinia simplex (Körn.).

Keimende Teleutosporen wurden auf Blätter folgender Pflanzen (meist Keimpflanzen) am 20. Mai aufgetragen: Cynoglossum officinale, Echium vulgare, Lithospermum arvense, Myosotis intermedia und Plantago lanceolata. Die Versuche waren aber ohne Erfolg.

5) Puccinia silvatica Schroet.

Dicht zwischen Rasen von Carex digitata fand ich im Walde Pintooke bei Tábor auf Taraxacum officinale massenhaft entwickeltes Aecidium der genannten Puccinia. Carex digitata zeigte weder alte noch frische Infektion. Da ich aber vom Herrn Dir. Kubát auf den Blättern dieser Segge eine Uredoform erhielt, so durchführte ich doch Infektionsversuche mit den Aecidien. Aus dem botanischen Garten entnommene Curex digitata wurde am 22. Mai reichlich mit Aecidien von Taraxacum bestreut und außerdem noch einige Blätter mit frischen Aecidium auf den Rasen gelegt.

Wie zu erwarten war, erschien auch gar kein Effekt, alle Blätter blieben pilzfrei. Auch im Freien bemerkte ich bei öfteren Besuchen niemals auf Carex digitata irgend eine Infektion.

Dagegen waren die in der Nähe wachsenden Rasen von Carex brizoides mit Uredo- und Teleutosporenlagern bedeckt.

6) Puccinia Opizii Bubák
(Pucc. lactucina [Lagerh. et Lindr.] Vestr. neo Sydow).

Nach meinen Versuchen (siehe dieses Centralbl. Bd. IX. 1902. p. 925 ff.) gehört Aecidium lactucinum Lagerh. et Lind. von Lactuca muralis und L. scariola zu einer Puccinia auf Carex muricata, der ich den Namen Puccinia Opizii gegeben habe.

Im Herbst 1902 sammelte ich am Originalstandorte dieser Puccinia bei St. Joannes nächst Prag reichliches Teleutosporenmaterial, mit welchem ich am 1. Juni 1903 auf folgenden Pflanzen Infektionsversuche durchführte: Seneoco nemorensis, Taraxacum officinale, Lactuca muralis, viminea, Crepis biennis, Centaurea Scabiosa, Jacea, paniculata, Lappa tomentosa.

Am 16. Juni erschienen auf Lactuca muralis Spermogonien, am 24. Juni erste geöffnete Aecidien.

Die anderen angeführten Pflanzen blieben durch die ganze Vegetationsperiode pilzfrei.

7) Puccinia Caricis montanae E. Fischer.

Am Berge Groß-Wostray bei Aussig a. E. (Böhmen) sammelte ich schon im Jahre 1901 auf Centaurea Jacea ein Aecidium in Gesellschaft mit Carex montana, deren trockene Blätter zahlreiche Lager von ausgekeimten Teleutosporen trugen.

Ich holte mir im Frühjahr 1903 von diesem Standorte frisches Aecidienmaterial und brachte es am 9. Juni auf Blätter einiger Topfpflanzen von Carex montana und Carex brizoides.

Am 24. Juni fand ich zahlreiche Uredolager auf vielen Blättern von Carex montana. Die zweite Carex-Art blieb pilzfrei.

8) Puccinia triticina Eriks.

Ueberwinterte Teleutosporen von Weizenblättern wurden am 28. Mai auf Echium vulgare, Cynoglossum officinale, Lithospermum officinale und Myosotis intermedia gebracht.

Es erschien aber auf allen Versuchspflanzen kein Effekt.

9) Puccinia Baryi (Berk. et Br.).

Aus bestimmten Gründen habe ich schon vor längerer Zeit den Verdacht geschöpft, daß zu Puccinia Baryi (Berk. et Br.) ein Galium-Aecidium gehört. Ich habe deshalb überwinterte Teleutosporen am 21. Mai auf folgende Pflanzen gebracht: Galium verum, mollugo; Geranium pratense, pusillum, molle pyrenaicum, dissectum, columbinum, silvaticum, phaeum und Plantago lanceolata.

Alle Versuchspflanzen blieben pilzfrei.

10) Puccinia punctata Link.

Ueberwinterte Teleutosporen dieser Puccinia von Galium silvaticum wurden massenhaft auf eine Menge etwa 1 cm hohen Keimpflanzen von Galium verum und Gal. mollugo aufgetragen, und zwar am 16. Mai.

Die Versuchspflanzen zeigten aber bis zum 13. Juni keine Infektion.

An diesem Tage wurden auf dieselben Pflanzen wieder zahlreiche Aecidiosporen tragende Blätter von Galium silvaticum gebracht, welche teilweiße außerdem schon von entwickelten Uredosporen bedeckt waren.

Es erschien aber wieder kein Effekt auf beiden Galium-Arten.

Demnach ist es sicher, daß auch diese Auteupuccinia einige Anpassungsformen umfaßt.

11) Puccinia Pyrethri Rabh.

Ueberwinterte Teleutosporen dieser Art von Chrysanthemum corymbosum wurden am 19. Mai in 2 Individuen von Artemisia absinthium und vulgaris gebracht.

Auf beiden Versuchspflanzen erschien aber kein Resultat.

12) Uromyces Astragali (Opiz.).

Ueberwintertes Teleutosporenmaterial von Astragalus glycyphyllus wurde mehrmals im Mai und Juni auf junge Pflanzen derselben Astragalus-Art gebracht.

Es erschien aber niemals irgend ein Resultat.

Damit stehen im Einklang die Versuche von Jordi (9,778), welcher bewiesen hat, daß Uromyces Astragali mit einem Aecidium auf Euphorbia cyparissias zusammenhängt.

13. Uromyces Fabae (Pers.).

Am 19. Mai wurden 2 Individuen von Vicia Faba mit überwinterten Teleutosporen von Orobus vernus besäet.

Die Versuche verliefen aber ohne Erfolg.

Am 9. Juni wurden auf zwei andere Pflanzen (Vicia Faba) zahlreiche Aecidiosporen von Orobus vernus ausgesäet.

Auch dieser Versuch verlief negativ.

Diese Resultate decken sich ebenfalls mit denjenigen, welche Jordi (9,777) erzielte. Auch er hat gezeigt, daß Teleuto-, Aecidio- und Uredosporen von Uromyces Fabae auf Lathyrus vernus unter anderen Pflanzen auch Vicia Faba nicht infizieren.

14) Aecidium auf Ranunculus auricomus.

Am 12. Mai erhielt ich von Kestřan bei Pisek (Böhmen) das genannte Aecidium. Da ich gerade sehr schön entwickelte Keimpflanzen von Poa nemoralis zur Verfügung hatte, so stellte ich einen Aussaatversuch mit den Aecidien auf diesem Grase auf.

Die jungen Graspflanzen blieben aber pilzfrei. Poa pratensis, auf welcher sich der Pilz vielleicht weiter entwickelt, stand mir augenblicklich nicht zur Verfügung.

15) Uromyces Poae Rabh. von Poa nemoralis.

Wie ich schon im IX. Bande (1902) dieses Centralbl. p. 927 mitgeteilt habe, gelang es mir nicht mit den Sporidien des obengenannten Pilzes Ranunculus nemorosus zu infizieren.

Ich habe an demselben Standorte (Zahořaner Tal bei Prag) im Herbst wiederum neues Material gesammelt und mit demselben im Frühjahre 1903 neue Versuche angestellt.

Auch bei diesen Versuchen, die am 16. Mai durchgeführt wurden, blieben Ranunculus nemorosus und Ficaria ranunculoides pilzfrei.

16) Melampsorella Caryophyllacearum (DC.) Schroet.

Wie bekannt wurde von Fischer (10) und v. Tubeuf (11) durch Infektionsversuche festgestellt, daß zu dieser Melampsoracee das hexenbesenbildende Aecidium elatinum Alb. e Schw. gehört.

Da bei den Versuchen beider genannten Autoren und bei denjenigen von Klebahn bestimmte Pflanzen ziemlich verschiedenes Verhalten gegen die Infektion mit Aecidiosporen zeigten, so entschloß ich mich auch mit hiesigem (Tábor) Material Infektionsversuche vorzunehmen.

Am 19. Juui wurden mit Aecidiosporen je 2 Topfpflanzen von Stellaria nemorum, Holostea und Cerastium arvense infiziert.

Die Infektion verlief nur auf den zwei erstgenannten Pflanzen positiv. Auf Stellaria nemorum wurden am 13. Juli geschlossene und offene Uredolager beobachtet. Auf Stellaria Holostea erschienen deutliche Uredolager am 15. Juli.

Das benutzte Infektionsmaterial stammte bei allen hier angeführten Versuchen von einem und demselben Hexenbesen. Etwa 5 m weit von demselben wuchs Stellaria nemorum, auf welcher später Uredo- und Teleutosporen reichlich gefunden wurden.

Aus dem Resultate meiner Versuche ergibt sich, daß sich der hiesige Pilz ebenso verhielt wie jene, die von Tubeuf und Klebahn (12, 13) benutzt wurden.

17) Melampsorella Symphyti (D.C.) Bubák.

Am 27. Mai 1900 gelang es mir bei Wesseln nächst Aussig auf dem zahlreich dort wachsenden Symphytum tuberosum neben Uredosporen auch die Teleutosporen des genannten Pilzes zu entdecken. In den folgenden 2 Jahren fand ich sie dann sehr oft und manchmal massenhaft an verschiedenen Stellen des Mittelgebirges zwischen Leitmeritz, Aussig a. E. und Auscha, im Jahre 1902 im Roztoker Haine bei Prag und endlich im Jahre 1903 massenhaft im Walde Pintovka bei Tábor, an allen Standorten auf Symphytum tuberosum.

Von derselben Nährpflanze wurden sie mir im Jahre 1902 von H. W. Krieger aus Sachsen geschickt.

Bei Durchsicht meines Herbarmateriales stellte sich dann heraus, daß ich sie schon im Jahre 1898 bei Hohenstadt in Mähren auf Symph. officinale gesammelt habe.

Außerdem fand ich die Teleutosporen noch auf dem Materiale aus Ungarn, und zwar von Kmet (1889, 1898) und Bäumler (1892) auf Symph. tuberosum und von Greschick (1891) auf Symph. cordatum W. K.

Nach Analogie von Melampsorella Caryophyllacearum (D.C.) war sicher zu erwarten, daß die zugehörigen Aecidien ebenfalls auf Abies vorkommen. Ich habe die Teleutosporen auch immer in Wäldern gefunden, welche aus Tannen und Fichten zusammengesetzt waren oder, wenn sich die Nährpflanzen (Symph. tuberosum) in Laubwäldern befanden, waren immer auch Tannen und Fichten vereinzelt vorhanden.

Besonders hier bei Tábor kommen die Teleutosporen in einem Walde vor, wo die Tannen überwiegen.

Ich nahm deshalb Infektion nur auf Abies pectinata und Picea excelsa vor.

Am 19. Mai wurden 2 Tannen und 2 Fichten, welche schon

früher in Töpfe versetzt wurden, reichlich mit Blättern von Symphytum tuberosum, die massenhaft ausgekeimte Teleutosporen trugen, belegt.

Je zwei Tannen und Fichten standen seitwärts als Kontrollpflanzen.

Am 31. Mai wurden auf beiden Seiten schon früher schwach verbleichter Tannennadeln kleine grünliche bis gelbliche Pusteln beobachtet, die sich später als junge Anlagen der Pseudoperidien erwiesen.

Am 4. Juni erschienen auf beiden Seiten sehr zahlreiche kleine, orangegelbe Pykniden.

Am 20. Juni konnte ich auf der Unterseite der Nadeln zum erstenmale vereinzelte, geöffnete Aecidien beobachten.

Die Entwickelung der Aecidien ging überhaupt sehr langsam vor sich, denn am 24. Juni und 4. Juli waren nur wenige Pseudoperidien geöffnet.

Die beiden besäeten Fichten und alle vier Kontrollpflanzen blieben pilzfrei.

Der Versuch wurde am 29. Mai nur auf zwei Tannen wiederholt.

Am 16. Juni erschienen auf den Nadeln der infizierten Pflanzen massenhafte Pykniden, denen dann die Aecidienentwickelung folgte. Die ersten geöffneten Pseudoperidien bemerkte ich am 28. Juni.

Die zwei Kontrolltannen blieben vollkommen gesund.

Im ersten Falle dauerte die Inkubationszeit (bis zur Aecidienentwickelung) 32 Tage, im zweiten Falle 29 Tage.

Durch diese Versuche wurde also festgestellt, daß Melampsorella Symphyti (DC.) Bubák mit einem Aecidium auf Abies pectinata genetisch verbunden ist.

Auch im Freien wurden an dem Standorte der Melampsorella sehr zahlreiche Aecidien auf Tannennadeln gefunden und zwar zum erstenmale am 19. Mai. Sie wurden immer nur an niedrigeren Bäumen beobachtet, die höchstens 2 m hoch waren.

Mit diesem spontan entstandenen Materiale wurden am 24. Juni Aussaaten auf Symphytum tuberosum vorgenommen.

Die Versuchspflanzen, welche aus dem botanischen Garten genommen werden mußten, hatten aber von irgend einem Insekt stark durchlöcherte Blätter und gingen in einigen Tagen nach dem Versuche zu grunde. Auch schien es, als ob das zweitägige Verbleiben in feuchter Luft unter den Glasglocken sehr nachteilig auf sie wirke.

Am 28. Juni und 4. Juli wurden die Versuche wiederholt, aber die Versuchspflanzen starben wieder und wieder ab.

Es müssen also mit den Aecidien neue Versuche durchgeführt werden. Ich habe mir eine genügende Anzahl von Pflanzen verschafft, deren Entwickelung in bestimmter Weise verspätet wird, um zur rechten Zeit junges, infektionsfähiges Material zur Verfügung zu haben.

Ich lasse zuerst die Beschreibung der Aecidien folgen:

Pykniden, hauptsächlich auf der Unterseite oft sehr zahlreich entwickelt, herdenweise oder daselbst über die ganze Fläche

verteilt, ziemlich dicht stehend, klein, halbkugelig oder oblong, orangegelb.

Aecidien, auf der Unterseite in zwei Reihen längs des Nerven stehend: einzelne Pseudoperidien in weiten Abständen, höchstens zu 16 in einer Reihe, gewöhnlich nicht alle entwickelt, kurzwalzenförmig, 0,5—0,75 mm hoch, am Scheitel gewöhnlich unregelmäßig durch einen länglichen Spalt sich öffnend, endlich bis zur Basis in 3—5-lange, unregelmäßige, schief abstehende oder ganz zurückgebogene Zipfel zerreißend, farblos. Pseudoperidienzellen in Längsreihen, unregelmäßig, länglich-polygonal, 30—55 μ lang, 17—22 μ breit, hyalin, dünnwandig, mit feinkörniger Membran. Sporen durch sterile Zwischenzellen in den Reihen getrennt, größtenteils kugelig, seltener eiförmig oder oblong, 19,8—39,6 μ lang, 17,6—28,6 μ breit, orange, Membran von deutlicher Stäbchenstruktur, auf der ganzen Oberfläche dichtwarzig oder stellenweise kahl.

Dieses Aecidium ist von allen bisher bekannten Tannen-Aecidien ganz verschieden.

1) Von Aecidium pseudocolumnare Kühn hauptsächlich durch gefärbte Sporen:

2) Von Aecidium columnare Alb. et Schw. durch kürzere, entferntstehende Pseudoperidien, größere, kugelige oder sonst abgerundete Sporen.

Bei Aec. columnare stehen die langen Pseudoperidien in dichten Reihen oft bis 40 in einer Reihe.

Die Sporen sind nur 17,6—30,8 μ lang, 11—22 μ breit, mehr länglich, seltener kugelig.

3) Von Aecidium zu Pucciniastrum Abieti-Chamaenerii Kleb., welches nur 13—21 μ lange, 10—14 μ breite Sporen besitzt, ebenfalls verschieden.

4) Von Aecidium elatinum Alb. et Schw. hauptsächlich durch lokalisiertes Mycel.

Ueber die Uredo- und Teleutosporen, wie auch über ihr Mycel, welches in dem Wurzelstock überwintert, werde ich erst nach durchgeführten Infektionen mit Aecidiosporen berichten.

Hier mögen nur einige Angaben Platz finden. Die Teleutosporen entwickeln sich in den Epidermiszellen der Blattunterseite und sind 11—18 μ lang, 9—15 μ breit, schwach gelblich, glatt.

Bei der Keimung entwickeln sie exogen ein hyalines, vierzelliges, 6,6—8,8 μ breites Promycel. Die Sterigmen sind 8,8 μ lang, 3—3,5 μ dick und tragen je eine abgeflachte, kugelige bis eiförmige, 6,6—8,8 μ breite Sporidie, welche mit 2—2,5 μ hoher Ansatzstelle versehen ist.

Botan. und phytopath. Institut kgl. landw. Akademie.

Literatur.

1) Winter, Die Pilze. I. (In Rabh. Kryptogamfl. v. Deutschl. 2. Aufl. Leipzig 1884.)
2) Schroeter, Die Pilze Schlesiens. I. (In Cohn, Kryptogamfl. v. Schlesien. Breslau 1889.)
3) Plowright, A Monograph of the British Uredineae and Ustilagineae. London 1889.

4) De Toni, Ustilagineae et Uredineae. (In Saccardo, Sylloge Fungorum. Vol. VII. pars 2. Patavii 1888.)
5) Sydow, P. et H., Monographia Uredinearum. Vol. I. Leipzig 1903.
6) Dietel, Ueber Rostpilze mit wiederholter Aecidienbildung. (Flora 1895. Ergänzungsband. Bd. LXXXI. Heft 2.)
7) Schroeter, Entwickelungsgeschichte einiger Rostpilze. (In Cohn, Beiträge zur Biologie d. Pflanzen. Breslau. 1883.)
8) Bubák, Resultate d. mykol. Durchforsch. Böhmens im J. 1898. (Sitzungsberichte d. kgl. böhm. Ges. D. Wiss. 1899.)
9) Jordi, Kulturversuche mit Papilionaceen bewohnenden Rostpilzen. (Centralbl. f. Bakt., Parasitk. II. Abt. Bd. X. 1903.)
10) Fischer, E., Aecidium elatinum Alb. et Schw., der Urheber des Weißtannenhexenbesens etc. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1901 u. 1902.)
11) Tubeuf, v., Infektionen mit Aecidium elatinum, dem Pilze des Tannenhexenbesens. (Arb. d. biol. Abt. d. K. Gesundheitsamtes. 2. Berlin 1902.)
12) Klebahn, Kulturversuche mit Rostpilzen. X. Bericht. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. 1902.)
13) Idem, Bericht XI. (Jahrbuch. d. Hamburg. wissensch. Anstalten. 1903.)

Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév.

Par **Albert Eberhardt,**
Professeur de gymnase à St-Imier.

Avec 1 tableau.

(Suite.)

Le fruit est atrophié dans son ensemble, mais possède un épiderme et un parenchyme un peu hypertrophiés; son assise fibro-palissadique y reste intacte et épaissie et l'épiderme interne est écrasé, tous caractères qui le distinguent du fruit donnant asile à Cystopus. L'antithèse apparente d'un fruit atrophié dont les cellules sont hypertrophiées ne doit pas surprendre si l'on ajoute que la cavité interne n'existe plus.

Lorsqu'on s'adresse à des organes contenant en même temps les deux Péronosporacées, on peut très souvent, dans la tige et la feuille, extraire les caractères hypertrophiques différentiels, et faire la part de chacun des deux parasites. Par exemple, on trouve presque toujours un gonflement considérable de la moelle, un cambium extrafasciculaire d'origine corticale ou endodermique, des faisceaux à bois en éventail, des cellules de la gaîne amincies contre les faisceaux, tous caractéristiques de la présence de Peronospora, sans compter que ces cellules sont remplies de haustories. On remarque aussi, caractérisant Cystopus, une écorce avec coloration violette, une gaîne souvent amincie, un cambium interfasciculaire très actif.

Le tableau suivant complète celui de la page 9 relatif à la morphologie externe. Ils montrent ensemble que Cystopus candidus et Peronospora parasitica sont loin de produire les mêmes aberrations de Capsella bursa. Mais un point leur est commun: ce sont deux hypertrophytes.

	Cystopus candidus.	Peronospora parasitica.
7) Ecorce:	Très hypertrophiée.	Peu hypertrophiée.
8) Moelle:	Peu hypertrophiée.	Très hypertrophiée.
9) Cambium interfasciculaire:	Souvent actif.	N'existe pas.
10) Cambium extrafasciculaire:	N'existe pas.	Existe souvent dans l'assise corticale interne et l'endoderme.
11) Gaîne des tiges très attaquées:	Amincie en totalité.	Amincie seulement contre les faisceaux.
12) Feuilles:	Cellules hypertrophiées et non palissadiques.	Cellules peu hypertrophiées et palissadiques.
13) Assise fibro-palissadique:	Amincie et hypertrophiée.	Normale et épaissie.
14) Epiderme interne du fruit:	Hypertrophié et non écrasé.	Ecrasé.
15) Faisceaux surnuméraires:	Dans le fruit.	Pas de faisceaux surnuméraires.

b) Capsella Heegeri von Solms-Laubach. M. le Prof. Ed. Fischer, en septembre 1902, nous a communiqué de Berne trois plants très ramifiés de cette Crucifère, ainsi qu'un certain nombre d'inflorescences qui ont été d'excellents matériaux pour l'étude des hypertrophies dues à Cyst. candidus. Les trois exemplaires de Caps. Heegeri étaient à rosette basilaire de feuilles saines ou couvertes de nombreuses pustules. Leurs ramifications étaient abondantes et portaient des feuilles caulinaires saines ou maladives. Toutes les branches se terminaient par de longs axes fructifères dont plus de la moitié présentaient de belles hypertrophies.

Capsella Heegeri, comme on le sait, est une espèce fort intéressante décrite pour la première fois par von Solms-Laubach[1]). L'aspect de la plante rappelle Capsella bursa, et particulièrement des exemplaires de cette dernière espèce dont les ramifications sont restées assez fluettes. La fleur est très semblable à celle de Caps. bursa; mais il n'en est pas de même du fruit, qui se rapproche plutôt de celui du genre Camelina. En effet; tandis que le type Capsella a une silicule aplatie, triangulaire, avec une échancrure d'où part le style, Capsella Heegeri a son fruit presque cylindrique ou à peine déprimé latéralement, et un peu fusiforme aux deux bouts; l'extrémité n'a pas d'échancrure et le style est simplement la continuation de la silicule. L'étude histologique du fruit des deux espèces montre une différence importante ayant son siège dans notre assise fibro-palissadique. Rappelons ici que Capsella bursa présente, dans le pistil et le jeune fruit, cette assise très régulière et à parois cellulaires minces et délicates; le fruit mûr comporte une couche fibro-palissadique à membranes épaissies et résistantes. La silicule de Capsella Heegeri conserve pendant toute sa vie cet aspect jeune, et jamais cette assise n'est transformée en fibres épaissies. C'est l'étude comparée des deux Capsella qu'en a faite von Solms-Lau-

1) Botanische Zeitung. 1900.

bach qui a fait considérer la nouvelle espèce comme un stade jeune fixé de Capsella bursa.

Une grande analogie existe entre les aberrations caulinaires que présente Caps. Heegeri, et celles décrites d'autre part et relatives à Caps. bursa. Ainsi, on remarque des inflorescences déformées seulement à l'extrémité; d'autres le sont sur une plus grande longueur, et même toute une branche peut être gonflée. Si l'axe est hypertrophié seulement en son milieu, on voit une brusque déviation latérale. Toutes ces inflorescences maladives portent des fleurs et des fruits anormaux en plus ou moins grande quantité, les fruits normaux restant cependant les plus nombreux malgré un gonflement très marqué de l'axe. On trouve aussi, comme dans Caps. bursa, des inflorescences dont tous les fruits et les fleurs sont hypertrophiés.

On voit par cette esquisse morphologique que la description des anomalies de Caps. Heegeri serait une répétition de celles que nous avons mentionnées dans Caps. bursa. Qu'il nous suffise d'ajouter que des rameaux-courts se développent à l'aisselle de certaines feuilles, que tous les organes, à l'exception de la racine et des ovules, portent des pustules, que les fleurs gardent la symétrie florale et qu'elles montrent une virescence prononcée des pétales et des étamines. Quant au fruit sérieusement infecté, il prend souvent une forme aplatie, triangulaire, avec une échancrure où se loge le style hypertrophié. Ces nouveaux caractères lui donnent l'apparence d'une silicule de Capsella bursa, fait déjà signalé et figuré par von Solms-Laubach[1]). Il est à remarquer que ces pistils capselliformes se rencontrent surtout dans les cas où la silicule déformée conserve à sa base les verticilles floraux. Plus rarement, des fruits dépouillés des enveloppes florales se caractérisent par cet aplatissement.

Ce qui frappe en considérant des exemplaires de Caps. Heegeri infectés, c'est la coloration prononcée, plus apparente encore que dans Caps. bursa, qui teint largement en violacé le pourtour des pustules de tous les organes, coloration qui s'étend même sur de grands espaces de tiges gonflées, mais sans trace de vésicules conidiales. Les rameaux-courts sont entièrement de couleur violacée. Parfois les pustules elles-mêmes sont vivement teintées. Les branches saines des mêmes plantes de Caps. Heegeri montrent aussi, mais rarement, une teinte violette légère limitée à un seul côté des tiges, feuilles, fruits et calices. Tout nous fait penser que c'est la face exposée à la plus forte radiation, car nous n'avons pas vu les végétaux en place.

La confrontation de coupes saines et maladives nous donnera la valeur des aberrations histologiques. Commençons par la tige.

Les axes caulinaires non infectés montrent un épiderme stomatifère à cellules très allongées dans le sens longitudinal, un parenchyme comprenant trois ouquatre assises d'éléments chlorophylliens, un endoderme unisérié incolore ou légèrement vert, des faisceaux libéro-ligneux en stèle régulière. Au dos du phloème, se remar-

1) loc. cit.

quent une à trois assises de fibres sclérenchymateuses formant un faisceau appuyé contre l'endoderme. Le cambium fasciculaire seul existe; il est régulier, mais peu actif. Les espaces interfasciculaires sont remplis par une gaîne de sclérenchyme. Une moelle à gros éléments arrondis occupe le centre.

Les tiges hypertrophiées ont un épiderme à cellules plus larges et moins allongées que normalement; les stomates y sont de dimensions ordinaires. L'écorce est verdâtre; elle occupe un espace double ou triple de l'épaisseur normale à cause du gonflement de ses cellules; elle est vivement colorée en violet dans l'assise infraépidermique, tant sous les vésicules conidiales qu'entre elles, et cela tout autour des tiges, et non seulement du côté, orienté vers la plus forte radiation. L'endoderme se distingue par ses cellules hypertrophiées et bourrées d'amidon. Ces grains amylacés peuvent aussi exister dans les cellules corticales voisines de l'assise endodermique, et même gagner tout le parenchyme jusqu'à la couche violette; toute l'écorce est alors dépourvue de chlorophylle. Le faisceau sclérenchymateux dorso-libérien est complètement transformé en parenchyme vert à parois minces. Le liber a des éléments nombreux, élargis jusqu'à deux fois, avec cambium fasciculaire très actif. Entre les faisceaux, la gaîne est à cellules hypertrophiées et à membranes amincies. On y remarque une zone irrégulière à cloisonnement tangentiel, constituant le cambium interfasciculaire. Le bois a tous ses vaisseaux élargis; souvent des lignes parenchymateuses radiales donnent au faisceau un aspect déchiqueté et étiré en largeur. Un tissu hypertrophié, composé de cellules souvent amylifères, forme la moelle. Les coupes de rameaux-courts offrent la même structure et montrent sur toute leur surface une vive coloration rouge-violacée dans l'assise infraépidermique. Quant aux grandes tiges mères, elles se distinguent des précédentes par la gaîne sclérenchymateuse généralement intacte, ainsi que les faisceaux libéro-ligneux, et par l'absence d'axes cambiaux interfasciculaires.

Les feuilles normales, tant basilaires que caulinaires, ont deux épidermes à cellules sinueuses. Le parenchyme vert a ses éléments arrondis, un peu palissadiques à la face supérieure. Au dos du liber, le faisceau de sclérenchyme se montre surtout dans la nervure médiane. Un cambium presque inactif se remarque dans le libéroligneux.

Les feuilles couvertes de pustules à la face inférieure ont leurs deux épidermes à éléments élargis, polygonaux, à parois non sinueuses. Le parenchyme est hypertrophié jusqu'au triple du diamètre normal, et montre, mais pas partout, l'assise infra-épidermique colorée en violet. Le faisceau dorsolibérien est fréquemment transformé en parenchyme à parois minces. Le faisceau libéro-ligneux est peu inquiété par le parasite; mais on y voit un cambium actif.

Les trois verticilles externes de la fleur normale ont une anatomie identique à celle de Capsella bursa. Quant au pistil et au fruit, l'assise fibro-palissadique existe, mais elle ne s'épaissit jamais; l'épiderme interne est sans stomates et s'écrase un peu vers la maturité.

Les fleurs anormales ont leurs organes hypertrophiés, très verts, et à coloration violette presque constante dans l'assise sous-épidermique du parenchyme, dans le calice et le pistil, plus rarement dans les étamines et les pétales. Les anthères ont leurs sacs polliniques plus ou moins irréguliers, leur assise spiralée plus ou moins parenchymateuse et verte, selon qu'on s'adresse à des étamines fortement ou faiblement anormales. Le pistil montre des conidiophores s'apprêtant à soulever les épidermes externe et interne. Ce dernier forme parfois des stomates. Le fruit fait voir des pustules internes ayant rempli la cavité de l'ovaire d'une poussière de conidies. Les ovules des fruits anormaux sont atrophiés; ceux des fruits ne portant que quelques pustules arrivent à maturité. Ajoutons que tous les parenchymes verts des organes hypertrophiés sont parcourus par de nombreux hyphes avec haustories.

Mieux encore que Capsella bursa, l'espèce qui nous occupe nous a fourni des coupes de tiges et de fruits, à gonflement naissant, qui montraient avec la plus grande netteté la coloration violette aussitôt que les cellules infra-épidermiques étaient contournées par les conidiophores en formation.

c) Arabis alpina. Les matériaux très abondants, mais d'une uniformité regrettable, proviennent tous de la Combe du Bez, sur le Chasseral au sud de Corgément. Les éboulis et les gros blocs calcaires de la combe sont tapissés d'innombrables Arabis couvertes de pustules de Cystopus candidus. Mais sur des centaines d'individus, il ne nous a été possible en deux ans de trouver que trois tiges d'inflorescences avec hypertrophie. Ces tiges ne portaient que quelques fleurs avec de rares pustules sur le calice et sur les fruits. Ce sont les feuilles des rejets stériles qui sont le plus atteintes par le parasite, sans exclure celles des tiges florifères. Elles portent de nombreuses pustules à la face inférieure, se traduisant à la partie supérieure par des taches verdâtres, couvrant plus ou moins la feuille qui devient bosselée. Les vésicules conidiales sont souvent disposées en nombreux groupes de deux à quatre cercles concentriques, simulant parfois une spirale. Les tiges hypertrophiées l'étaient sur 2 à 3 cm de longueur, et portaient des fleurs et des fruits avec de rares pustules. Les parties gonflées montraient une faible déviation latérale de l'axe d'inflorescence.

La feuille normale comprend deux épidermes à cellules polygonales à parois non sinueuses, avec poils étoilés. Tout le parenchyme a ses éléments arrondis, très chlorophylliens, avec grandes lacunes aérifères sous-stomatiques. Le faisceau libéro-ligneux de la nervure médiane est entouré d'une gaîne collenchymateuse, et possède un cambium actif.

Les feuilles infectées ont une épaisseur deux à trois fois plus grande que normalement, avec leurs éléments hypertrophiés dans les mêmes proportions. Les deux épidermes sont composés de grandes cellules irrégulières, à stomates et poils sensiblement normaux. Le parenchyme est verdâtre, fortement hypertrophié, avec mycelium abondant. Les lacunes aérifères y existent et sont souvent remplies sous les pustules par un enchevêtrement de hyphes. Le faisceau

est presque intact; son cambium est très actif et sa gaîne de collenchyme non amincie. De très rares feuilles, à petites taches brunies, décèlent la présence d'oospores.

Les axes d'inflorescences saines montrent un épiderme à cellules allongées dans le sens axial, un parenchyme cortical vert, une gaîne interfasciculaire à éléments épaissis, un petit faisceau sclérenchymateux dorso-libérien, un cambium fasciculaire. Il n'y a pas trace d'arcs générateurs entre les faisceaux. Les tiges gonflées montrent l'épiderme et l'écorce hypertrophiés, le sclérenchyme dorso-libérien à parois minces, ainsi que la gaîne. Les éléments du bois et du liber sont un peu élargis, avec des lignes radiales de parenchyme dans le xylème. Le cambium fasciculaire est actif. Une zone cambiale existe dans les endroits où la gaîne est parenchymateuse. Les tissus corticaux verts et la moelle sont parcourus par le mycelium.

Les rares pédicelles et calices portant des pustules se composent de parenchyme légèrement gonflé. Il en est de même de l'épiderme et des tissus parenchymateux du fruit. Comme nous n'avons pas trouvé de fruit très anormal, l'assise fibro-palissadique conserve son épaississement dans les parties saines, et s'amincit sous les pustules. L'épiderme interne, écrasé dans les endroits dépourvus de vésicules, est au contraire bien évident sous ces dernières.

Terminons l'étude d'Arabis alpina en disant que tous les parenchymes chlorophylliens sont verdâtres, parcourus par le mycelium, et que le végétal attaqué ne nous a jamais montré de coloration violette pas plus que la plante normale.

d) Lepidium sativum. Les matériaux qui nous ont servi proviennent de dix stations: quatre à Corgémont, trois à Tavannes, deux à Bienne et une à Courtelary. Elles ont fourni une ample provision de Lepidium dont plus de deux cents échantillons présentaient des hypertrophies. Parmi tous ces plants maladifs existe une grande parenté d'aspect. Cette similitude nous a permis de les classer en trois types hypertrophiques qui vont être décrits.

Occupons-nous d'abord de la coloration violette. Lepidium sativum non infecté ne montre aucune trace de cette teinte dans son jeune âge. Mais, lorsque ce végétal est déjà ramifié en longs axes fructifères, la tige, au voisinage du collet et seulement du côté de la plus forte radiation, prend assez souvent une teinte violette. Il y a mieux. Moins fréquemment, les tiges offrent cette couleur du côté sud, depuis le collet jusqu'à une hauteur de 5 à 20 cm. Rarement enfin, les feuilles, la base des fruits, le sommet des sépales, les étamines, montrent la teinte précitée, mais toujours sur la face frappée par le maximum de radiation.

Abordons le faciès des plantes anormales. Le premier type est de beaucoup le plus fréquent. L'unique tige mère, de la base au sommet, est très ramifiée, comme dans les plantes non infectées, et les branches se terminent par les axes fructifères allongés. Mais au premier coup d'œil, on distingue un nombre variable de rameaux-courts axillaires, pouvant exister depuis la tige mère jusque sur la base feuillée des longues inflorescences. Ces rameaux-courts restent très petits sur Lepidium sain, et ne s'y développent que si l'on vient

à détruire la partie supérieure de la branche. Dans le type anormal, ils ont au contraire de 1 à 3 cm de long. Ils sont verdâtres ou lavés de violacé, épaissis, avec quelques feuilles d'un vert pâle. Ils se terminent par un bouquet de boutons floraux hypertrophiés et complètement verts. Ils atteignent rarement 10 cm, ne portent que peu ou pas de pustules, mais sont par contre bourrés de jeunes oospores qui ne tardent pas à brunir et à donner à toute la surface du rameau une couleur d'un violet noirâtre, mélange de la teinte brune des oospores et de la coloration violacée de l'écorce. Alors l'épiderme et les tissus sous-jacents se déchirent, découvrent une masse pulvérulente brune, composée de cellules écrasées et d'oospores mûres, qui ne tarde pas à être détachée du rameau-court par les pluies et qui va se répandre sur le sol. A la fin, il ne reste du rameau qu'un cylindre de bois évidé.

La tige mère et les grosses branches du type que nous décrivons ci-dessus sont peu affectées par le parasite. On n'y voit que des gonflements locaux de 3 à 25 mm de long, n'occupant le plus souvent qu'un côté de la tige, et ne portant que de rares pustules, tandis que les tissus contiennent de nombreuses oospores. Les anomalies peuvent s'arrêter là. Mais souvent quelques-uns des longs axes d'inflorescence sont hypertrophiés sur 2 à 15 cm, soit depuis le sommet, soit seulement vers leur milieu. Dans ce cas, les parties gonflées ont un diamètre double ou triple du diamètre normal, et présentent la coloration violette, passant au violet noirâtre lors de la maturité des oospores qui abondent toujours dans l'écorce. Si toute l'inflorescence est épaissie, les fruits ainsi que le bouquet terminal, sont souvent hypertrophiés d'après les types qui seront décrits plus loin. Les tissus corticaux de l'axe ne tardent pas à devenir pulvérulents, et l'on a la répétition de ce qui a lieu dans les rameaux-courts. Il ne reste enfin de la branche fructifère, après la chute des fleurs et fruits pleins d'oospores, qu'une tige creuse et dénudée ne comprenant que les parties ligneuses. Certaines extrémités de tiges sont assez tortueuses et sont couvertes de pustules; leur hypertrophie est plus réduite que dans les axes contenant des oospores, et de plus ces derniers organes reproductifs ne s'y rencontrent que rarement, en petite quantité et dans la moelle seulement. Il arrive parfois que une ou plusieurs branches fructifères, au lieu de s'allonger, restent très ramassées, de sorte que les fruits sains ou anormaux se rassemblent en une tête plus ou moins serrée.

Le deuxième type hypertrophique présente un tout autre aspect que le précédent. Haute de 20 à 30 cm, la tige mère porte dès sa base quatre à huit branches qui, au lieu de se ramifier en longs axes fructifères, restent assez courtes (jusqu'à 15 cm), s'écartent à peine de la tige mère en s'élevant parallèlement à elle. Ces branches portent chacune, à l'aisselle de feuilles maladives, jusqu'à douze rameaux-courts de 1 à 5 cm eux-mêmes parallèles à la branche qui leur donne naissance, et ayant eux aussi de plus petits rameaux de 3 à 10 mm de long. Toutes ces ramifications sont verdâtres ou violacées, plus ou moins hypertrophiées, à oospores nombreuses dans les tissus, à feuilles petites et chlorotiques, à extrémités terminées

par un bouquet de petits boutons maladifs. L'ensemble de la plante est ramassé, rabougri, en forme de balai. C'est un type rare, qui dénote que le parasite est entré de bonne heure dans la jeune plante dont la ramification a suspendu ou ralenti sa croissance.

Le troisième type est celui qui offre les plus volumineuses hypertrophies. Sur une tige mère ramifiée normalement, avec les axes fructifères allongés, on voit une ou plusieurs branches tortueuses n'ayant que 6 à 15 cm de longueur, et se gonflant fortement puisqu'elles peuvent avoir jusqu'à six fois le diamètre normal. Ces ramifications anormales sont verdâtres ou violacées, portent des feuilles chlorotiques, de petits rameaux-courts, et se terminent sur 1 à 3 cm par des fleurs et des fruits monstrueux. Tous ces organes sont bourrés de jeunes oospores. Un peu plus tard, on voit toutes les parties devenir d'un violet noirâtre, se fissurer jusqu'à la moelle, et montrer dans les lèvres de la fissure une masse brune d'oospores et de cellules écrasées qui devient pulvérulente et déliquescente à la moindre pluie. En fin de compte, il ne reste qu'un cylindre creux formé des parties ligneuses. Le type que nous venons d'étudier est plus intéressant encore lorsque toutes les ramifications ainsi que la tige mère elle-même dans sa partie supérieure, sont arrêtées dans leur croissance, s'hypertrophient, se dénudent et se dépouillent de leurs tissus parenchymateux. Leur aspect est alors des plus singuliers et rappelle la ramification des cornes d'un cerf ou d'un renne.

Les hypertrophies qui affectent les feuilles ne sont très apparentes que lorsque ces organes sont entièrement bourrés d'oospores. Le limbe foliaire a alors une épaisseur double ou triple des tissus normaux; il est verdâtre, bosselé, avec coloration violette par places.

La fleur et le fruit sont très souvent monstrueux, gonflés, violacés, bourrés d'oospores. Les verticilles floraux hypertrophiés ont toutes leurs parties agrandies de deux à trois fois dans les trois dimensions; mais ils conservent leur symétrie. La corolle et l'androcée montrent une virescence prononcée. Le pistil et le fruit sont gonflés, bosselés, à ovules atrophiés ou rarement hypertrophiés, à tissus remplis d'oospores.

Par les descriptions précédentes, on voit les importantes modifications apportées au faciès du végétal par l'intrusion du parasite. L'examen histologique des organes va nous donner la valeur intime des aberrations.

La tige mère et les grandes branches normales (Fig. K) ont un épiderme (*a*) à éléments allongés dans le sens de l'axe. Le parenchyme cortical (*b*) se compose de quatre ou cinq assises de cellules arrondies et vertes, présentant assez rarement du côté du sud, une coloration rouge-violacée limitée aux cellulus sous-épidermiques. L'endoderme et le péricycle (*c* et *c'*) ont leurs cellules étirées tangentiellement. Les faisceaux libéro-ligneux montrent vers la moelle (*h*) à gros éléments, les vaisseaux spiralés primaires (*g*); puis de nombreux gros vaisseaux ponctués de xylème secondaire (*f*) enveloppés par des fibres ligneuses en files radiales, et enfin un cambium fasciculaire (*i*) actif, limité par un liber (*e*) bien développé. Il existe des groupes de sclérenchyme dorso-libériens (*d*), à fibres

épaissies. Entre les faisceaux, un cambium interfasciculaire actif produit vers l'intérieur des fibres ligneuses (*k*) en séries radiales se soudant latéralement aux fibres correspondantes des faisceaux. Cette même assise cambiale donne naissance vers l'extérieur à du parenchyme chlorophyllien (*m*) s'appuyant contre le péricycle (*c'*). Tout contre la moelle existe une bande onduleuse épaissie formant une gaîne (*k'*). L'anatomie d'une tige fructifère allongée possède les mêmes caractères décrits ci-dessus, mais seulement dans sa partie inférieure. Vers son extrémité, elle en diffère par l'absence d'une assise cambiale interfasciculaire.

Les tiges infectées sont assez souvent gonflées sur 1 cm environ de longueur, mais uniquement d'un côté de la tige, tandis que le côté opposé a ses tissus parfaitement normaux. On comprend tout l'intérêt qu'il y a d'étudier des coupes d'un tel organe. Aussi, nous en avons tiré profit pour les descriptions suivantes, tout en comparant attentivement avec des préparations ou saines, ou infectées dans leur intégrité.

Les tiges et grandes branches hypertrophiées donnent lieu aux plus curieuses aberrations (Fig. N). L'épiderme (*a*), au moment où le gonflement commence, montre une active division de ses cellules avec formation de stomates; de sorte que l'examen d'une tige très épaissie (comme Fig. N) fait voir des éléments épidermiques de grandeur normale mais un peu moins allongés dans le sens axial. C'est l'écorce (*b*) qui prend un développement remarquable, puisque certaines tiges maladives nous l'ont montrée hypertrophiée jusqu'à sept fois en diamètre. La plus grande irrégularité règne dans les assises corticales dont les cellules, très gonflées et arrondies (comparer Fig. K et Fig. N) font souvent voir une bipartition ou même une tripartition tangentielles. Toutes les cellules, avant la maturité des oospores, ont leur chlorophylle verdâtre; et nombreuses sont celles dont le suc est entièrement coloré d'un rouge-violacé, couleur qui peut atteindre les éléments de l'endoderme (*c*). Ainsi, dans L e p i d. s a t i v u m, ce n'est pas seulement la première assise infra-épidermique, mais très souvent jusqu' aux couches les plus profondes de l'écorce, qui prennent la coloration. Le tissu cortical dans sa totalité est rempli d'oospores et de mycelium. L'endoderme (*c*) lui aussi prend un puissant développement puisque son assise unique s'hypertrophie et se divise à tel point, qu'elle peut donner naissance à six assises de cellules en tout semblables à celles de l'écorce. Ce sont les coupes dont on a déjà causé plus haut, c'est-à-dire présentant une partie saine et une partie gonflée, qui montrent bien les transformations dont l'endoderme est le siège, dans la zone de passage entre les tissus normaux et ceux qui sont infectés. La Fig. L le fait voir à un grossissement de vingt-deux diamètres. Cette particularité se caractérise mieux encore à un plus fort grossissement (Fig. M). C'est alors qu'on peut observer l'endoderme normal (*c*), puis cette même assise gonflée et divisée (*c'*); plus loin encore, les cellules arrondies simulent celles de l'écorce. Cette division endodermique n'est pas partout aussi progressive que le montre la figure: elle est parfois brusque et irrégulière. Le péricycle ne se divise

que rarement; il ne fait qu'hypertrophier ses éléments. Les faisceaux dorso-libériens amincissent peu souvent leurs fibres dans les tiges qui nous occupent; mais nous verrons qu'il en est autrement dans les axes décrits plus loin. Le liber a ses tubes un peu plus volumineux qu'à l'état normal. La zone cambiale fasciculaire n'est pas localisée à une seule assise; elle est au contraire très active à diverses profondeurs. Le xylème offre fréquemment un caractère inattendu: il prend la forme, en coupe transversale, d'une bouteille à col plus ou moins allongé s'appuyant contre le liber qui simule une espèce de chapeau (Fig. N). Les vaisseaux sont un peu anormaux; ils sont entourés de fibres ligneuses en files radiales, dont le diamètre est exagéré, et les parois sont amincies et peu ou pas lignifiées. Dans les espaces interfasciculaires, les arcs cambiaux sont actifs et réguliers. Ils ne donnent naissance qu'à des cellules parenchymateuses avec chlorophylle, disposées en files radiales, et s'appuyant contre la gaîne interne périmédullaire. Les éléments de cette dernière sont élargis et à parois amincies. La moelle est intacte.

L'examen des branches du troisième type décrit plus haut, à faciès de cornes de Cervidés, offre aussi des anomalies semblables à celles qu'on vient d'examiner. Mais ici, la moelle elle-même entre en jeu: elle est bourrée d'oospores, et nombreuses sont les cellules qui montrent une bipartition en même temps qu'une hypertrophie prononcée. En plus, les fibres dorso-libériennes sont très élargies et à membranes minces. On jugera de l'effet produit par le parasite, en disant que l'écorce, au lieu de présenter quatre assises de cellules, n'en montre parfois pas moins de dix entièrement teintées de violet, et l'endoderme cinq toutes colorées aussi. Lorsque ces branches présentent de larges fissures et la masse granuleuse pulvérulente dont on a parlé, les coupes, après la pluie, contiennent un mélange d'innombrables oospores foncées, de cellules brunies et écrasées, et de Bactériacées. Une coupe dans les cylindres creux lavés par la pluie, fait voir les parties lignifiées des faisceaux, réunis par la gaîne interfasciculaire.

Les axes d'inflorescences gonflés ressemblent aussi aux exemples ci-dessus. Mais souvent les fibres sclérenchymateuses dorso-libériennes, ainsi que la gaîne périmédullaire, ont leurs éléments parenchymateux et à parois minces; les faisceaux n'y sont pas en forme de bouteille, et des arcs cambiaux inter et intrafasciculaires sont en activité. Si l'axe fructifère hypertrophié porte de nombreuses pustules, les tissus présentent aussi les mêmes anomalies, mais de moindres dimensions, et la coloration violette se localise au plancher des vésicules dans l'assise infra-épidermique. Les oospores, si elles existent, ne se rencontrent qu'en petit nombre dans la moelle, plus rarement dans l'écorce.

Quant aux rameaux-courts, dont la croissance est provoquée par le parasite, on peut s'attendre dès l'abord à l'absence de toute cellule épaissie dans leurs tissus. En effet, il existe peu de formations secondaires, provenant d'un cambium en cercle complet. Les faisceaux ne montrent que des vaisseaux spiralés et seulement quelques vaisseaux ponctués enveloppés de cellules peu ou pas lignifiées.

L'écorce et l'endoderme participent le plus à l'hypertrophie et sont, ainsi que la moelle, le siège des oospores. On a vu plus haut que les rameaux-courts sont d'abord verdâtres, puis qu'ils deviennent peu à peu violacés et enfin d'un violet noirâtre. Des coupes dans ces rameaux verdâtres montrent le parenchyme sans teinte violette, avec de très jeunes oogones. Si l'on s'adresse à des rameaux encore verts extérieurement, mais avec des oogones plus âgés, fécondés et présentant déjà l'oospore en formation, on voit que beaucoup de cellules du parenchyme possèdent une légère teinte violette. Lorsque les rameaux-courts sont déjà violets à l'extérieur, c'est que les oospores montrent les premières traces des sculptures de l'exospore; alors, les cellules sont d'un beau rouge-violacé. Ce sont ces mêmes rameaux-courts qui nous ont permis l'observation des développements successifs de l'oogone.

La feuille entièrement infectée est de deux à trois fois plus épaisse que normalement. Ses cellules sont hypertrophiées, à chlorophylle verdâtre, et à coloration violette dans de nombreuses cellules à toutes les profondeurs. D'innombrables oospores s'y développent. Ces feuilles à oospores se trouvent surtout sur les rameaux-courts et les branches qui semblent avoir été hypertrophiées de bonne heure. Lorsque les plants de Lepidium sativum sont jeunes, les feuilles portent surtout des vésicules conidiales, qui rendent verdâtre et légèrement gonflée la zone ambiante de parenchyme.

La fleur et le fruit méritent d'arrêter notre attention. Le pédicelle normal participe de la nature de l'axe fructifère, mais ne présente pas de cambium interfasciculaire. Quant au méristème du faisceau, il est peu actif. La fleur saine a un calice dont les deux épidermes ont leurs cellules stomatifères et un peu allongées dans le sens du sépale. Le parenchyme de ce dernier est vert et parcouru par trois ou quatre faisceaux sans cambium, à xylème uniquement formé de vaisseaux spiralés. On voit un petit groupe de fibres dorso-libériennes. La première assise verte montre parfois la coloration violette du côté de la plus forte radiation, mais exclusivement dans l'assise infra-épidermique. Le pétale a ses cellules épidermiques sinueuses et papilleuses, son parenchyme incolore et un faisceau libéro-ligneux semblable à ceux du calice. L'étamine possède un faisceau sans cambium; elle est du type décrit dans Capsella bursa. Le pistil normal, long de $1^1/_2$ mm, laisse voir un épiderme externe en active division et formant de nombreux stomates; ses cellules ne sont pas onduleuses. Lorsque cet organe atteint 2 à 3 mm, il n'y a plus de division épidermique, et les éléments montrent déjà leurs parois légèrement sinueuses. Le parenchyme vert est formé de trois ou quatre assises de cellules avec chlorophylle et amidon; il s'adosse à l'assise fibro-palissadique dont les fibres sont encore à parois minces et dont l'aspect est très analogue au fruit jeune de Caps. bursa représenté Fig. G. La cavité interne est tapissée par un épiderme non écrasé, à éléments allongés transversalement et sans stomates. Dans un fruit plus âgé, tout est comme ci-dessus; mais l'épiderme externe a ses cellules grandes et complétement onduleuses, le parenchyme perd peu à peu son amidon et sa chlorophylle, l'assise fibro-palissa-

dique est très épaissie et l'épiderme interne est écrasé. Les faisceaux libéroligneux ont un cambium non actif, et possèdent des fibres dorsolibériennes.

Tous les verticilles d'une fleur maladive ont leurs parenchymes bourrés d'oospores; les cellules sont entièrement violettes. Le pédicelle présente les hypertrophies caulinaires, avec cambium inter- et intrafasciculaire très actif, et avec oospores dans l'écorce et la moelle. Le calice comporte de fréquentes bipartitions dans les cellules du parenchyme; il y a des faisceaux surnuméraires dont les fibres dorsolibériennes sont amincies. Les pétales ont leurs cellules épidermiques non ou peu papilleuses, avec stomates. Leur parenchyme est virescent. Le filet des étamines montre une division active de l'épiderme avec une production anormale de stomates; le parenchyme est hypertrophié et chlorophyllien. L'anthère très gonflée porte un épiderme à stomates nombreux; il n'y a pas trace d'assise spiralée; celle-ci est transformée en grosses cellules riches en chlorophylle. Les loges polliniques sont parfois entièrement parenchymateuses, mais le plus souvent elles existent sous forme de lacunes très irrégulières à grains de pollen écrasés et brunis. Les anthères peuvent aussi ne présenter qu'une faible hypertrophie et posséder des sacs polliniques réguliers avec assise spiralée intacte. Le pistil garde très longtemps la faculté de diviser ses cellules épidermiques et de former des stomates (Fig. O); ainsi, par exemple, le fruit monstrueux de 8 mm de long montre encore cette activité, tandis que le pistil normal de 2 à 3 mm ne fait plus qu'augmenter le volume de ses cellules sans les multiplier. Le fruit fortement gonflé, violet-noirâtre et rempli d'oospores mûres, a terminé sa croissance et ne laisse plus voir qu'un épiderme à cellules très élargies et à ondulations grossières. Le parenchyme se divise activement dans tous les sens; il est chlorophyllien, à coloration violette à toutes les profondeurs, et il contient de nombreuses oospores. L'assise fibro-palissadique a ses cellules très hypertrophiées, ramassées, polygonales, à parois minces et avec chlorophylle. L'épiderme interne est en voie de division très active et forme de nombreux stomates dans certains fruits, tandis que d'autres n'en ont pas. Les faisceaux libéro-ligneux sont plus nombreux que normalement, avec cambium actif et fibres dorso-libériennes amincies. Quant aux ovules, ils sont le plus souvent petites et atrophiées. Mais nous avons rencontré quelques-uns d'entre eux, dans des fruits très hypertrophiés, qui étaient au contraire gonflés en même temps qu'avortés; leur épiderme dénotait une division active et la formation de stomates nombreux; tout le parenchyme interne était chlorophyllien et homogène, non amylifère comme au normal, et contenait de jeunes oogones. Certaines coupes laissaient bien voir le mycelium dans le funicule hypertrophié, et de ce dernier organe, les hyphes passaient dans les ovules ci-dessus décrits.

e) Brassica Rapa. C'est un jardin de Corgément qui nous a fourni les quarante-sept exemplaires anormaux de cette plante, sur lesquels nous nous basons pour notre étude.

Dans les plants de Brassica Rapa non infectés par Cystopus candidus, et dont les branches sont terminées en longs rameaux

fructifères, une coloration violette se laisse voir, mais seulement du côté de la plus forte radiation, sur la partie de la racine tubériforme sortant de terre, sur les tiges et les branches, plus rarement sur l'une ou l'autre face des feuilles et sur le calice et le fruit. Pour éviter de nous répéter, disons que ces mêmes organes présentent la teinte rouge-violacée sous de nombreuses pustules dont tous les organes hypertrophiés sont couverts, et cela indépendamment de l'orientation.

Les exemplaires très attaqués montrent la tige mère, les branches et les longs axes fructifères hypertrophiés et couverts de pustules sur une longueur allant de 20 à 60 cm. Toutes ces tiges peuvent avoir une épaisseur $1^1/_2$ à $2^1/_2$ fois plus grande que les parties normales. Peu à peu, les vésicules conidiales disparaissent, et ne laissent sur l'écorce que des dépressions brunâtres qui donnent à la tige un aspect corrodé. Les fleurs et les boutons hypertrophiés se dessèchent alors et tombent. Il ne reste de la plante que la tige et les branches dénudées, avec des feuilles 'plus ou moins desséchées; les axes florifères n'ont gardé que la base renflée des pédicelles. Après la pluie, tous les parenchymes se désorganisent et il ne persiste plus qu'un cylindre creux de parties ligneuses, faciès que nous avons déjà remarqué dans L e p i d i u m s a t i v u m. Il n'est pas rare de rencontrer à l'aisselle des feuilles des rameaux-courts, de 5 à 15 cm de long, hypertrophiés et terminés par un bouquet très serré de feuilles et de boutons anormaux. Ces rameaux restent petits dans la plante saine et ne se développent que si la partie supérieure de la tige vient à être détruite, ou si tout le végétal encore en croissance a été brusquement plié et couché contre le sol.

Il s'en faut de beaucoup que le type ci-dessus soit commun. Souvent, ce n'est qu'une longueur de 2 à 5 cm de la tige ou des branches qui dénote une hypertrophie couverte de pustules. Fréquemment aussi, les inflorescences seules, sur 5 à 30 cm de longueur à partir du sommet, présentent une épaisseur double de celle de la partie inférieure non renflée. On voit alors dans le bas de nombreux fruits normaux ou avec de rares pustules ne gênant nullement la maturation des ovules. L'axe monstrueux porte à sa base des fruits qui se dessèchent et tombent; ces derniers ne laissent qu'une fraction de leur pédicelle gonflé attaché sur la tige. L'extrémité de celle-ci est pourvue de fleurs très anormales, et elle se termine par un bouquet de boutons hypertrophiés. D'abord, toutes les parties attaquées sont d'un vert vif. Après la disparition des vésicules, tous les parenchymes se désorganisent sous la pluie, et il ne reste, comme plus haut, qu'un cylindre ligneux.

Nous avons suivi le développement d'un axe florifère attaqué, depuis le moment où il sortait d'un groupe de feuilles, jusqu'à sa désorganisation. Le 29 août 1902, un plant de B r a s s i c a R a p a sain partout ailleurs, présente deux axes florifères longs de 2 à 3 cm et d'aspect anormal. Chacun de ces deux axes porte un bouquet très serré de boutons gonflés mais sans pustules. Quatre semaines après, l'une des deux branches à 35 cm et l'autre 28 cm. Elles sont à l'aisselle de deux feuilles entièrement couvertes de vésicules; elles portent à la partie inférieure quelques feuilles maladives munies chacune d'un rameau-court de 2 à 6 cm à feuilles et boutons hyper-

trophiés. Puis elles se terminent par une longue inflorescence dont tous les organes sont gonflés et couverts de pustules. Le 2 octobre, les vésicules ont disparu, et l'écorce a un aspect corrodé. Huit jours après, les pluies ne laissent bientôt plus persister que deux cylindres ligneux évidés.

Les feuilles inférieures de la plante sont généralement peu transformées par le parasite, qui n'y montre que de rares pustules avec une petite hypertrophie locale. Ce sont surtont les limbes foliaires des rameaux-courts, ainsi que ceux de la base des inflorescences qui ont leur face inférieure couverte de vésicules.

Dans la fleur monstrueuse, le pédicelle est tourmenté, gonflé, et a souvent un diamètre quatre à six fois supérieur au diamètre normal. Le calice est bosselé, avec pustules sur les deux faces. Il a, ainsi que les autres verticilles, des dimensions doubles ou triples des dimensions normales. Les pétales sont très grands, charnus, tourmentés, avec onglet et partie médiane du limbe d'un beau vert et à vésicules sur les deux faces; leur bande marginale reste d'un jaune d'or. Toute l'étamine est verte, bosselée, avec pustules jusque sur l'anthère; cette dernière peut s'atrophier. Certaines étamines, prises dans des boutons, montrent de chaque côté du filet aplati une rangée de cinq à huit poils côniques et raides, longs de plus d'un millimètre, et dont la surface est granuleuse examinée à un faible grossissement. Le pistil est très allongé, bosselé, tourmenté, irrégulièrement cylindrique ou déprimé, parfois aussi claviforme. Ses ovules sont atrophiés, et sa surface porte de nombreuses vésicules conidiales. Une des plus curieuses anomalies que nous ayons observées, c'est celle représentée Fig. P. Cette fleur montrait un calice et une corolle du type décrit plus haut, mais dont les verticilles étaient disposés en spirale très serrée sur le bourrelet réceptaculaire. Puis venait une colonne portant les six étamines en une spirale allongée. Tout l'androcée était foliacé; ses anthères se présentaient sous forme de deux appendices jaunâtres et lamineux. La partie supérieure de la colonne montrait à peine, dans sa cavité très réduite, quelques traces d'ovules; elle s'épanchait en un disque terminal hérissé de papilles stigmatiformes. Certains pistils sont remplis de pustules internes. Les fleurs restent souvent à moitié fermées avec les sépales en capuchon. Les boutons du sommet de l'inflorescence s'ouvrent peu, et leurs pétales hypertrophiés sont à peine verts dans la partie médiane, tandis que tout le reste est d'un jaune d'or.

Passons à l'étude histologique. Les grandes branches saines montrent un épiderme stomatifère à cellules très allongées dans le sens axial. Cinq à huit assises vertes composent le parenchyme cortical. Les faisceaux libéro-ligneux sont serrés et nombreux, à cambium très actif et régulier, à liber avec un groupe de fibres sclérenchymateuses, à xylème pourvu d'une gaîne épaissie contre la moelle. Les interrayons, étroits, possèdent un méristème actif formant vers l'extérieur un parenchyme qui s'appuye contre l'endoderme, et vers l'intérieur un tissu à éléments lignifiés buttant contre la gaîne périmédullaire. Les axes d'inflorescences ont la même structure, mais leurs faisceaux sont moins nombreux, et leur cambium peu actif.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber pasteurisierte Milch.

Von N. Swellengrebel.

Der Gebrauch pasteurisierter Milch wird auch unter den niedrigeren Ständen immer allgemeiner wegen der mit ihrem Gebrauche verbundenen Vorteile. Man benutzt sie eher als rohe Milch, die man selbst gekocht hat, weil man an pasteurisierter Milch gar keinen oder nur sehr geringen sogenannten „Kochgeschmack“ bemerkt, und auch weil sie sogleich benutzt werden kann. Zugleich ist man sich bewußt, „keimfreie“ oder „krankheitserregerfreie“ Milch zu genießen, was natürlich sehr beruhigend ist. Eben darum ist eine gewisse Gefahr mit dem Gebrauche der pasteurisierten Milch verknüpft, da man im allgemeinen glaubt, daß diese Milch recht hygienisch sei, und folglich werden die meisten nicht daran denken, bei außerordentlicher Ansteckungsgefahr (bei Epidemieen in Großstädten z. B.) diese Milch zu kochen. Geraten nun auf irgendwelche Weise Krankheitserreger hinein, so werden viele Leute, ohne Ahnung von Gefahr, infiziert. Man soll also genau darauf achten, ob dieses Vertrauen, das man auf die pasteurisierte Milch setzt, auch wirklich berechtigt sei.

Bei diesen Untersuchungen hat man namentlich den Schwerpunkt auf die Frage zu legen, ob die Milch bis auf eine genügend hohe Temperatur erhitzt sei und ob diese Erhitzung während genügend langer Zeit stattgefunden habe. Diese letzte Frage kommt namentlich dann in Betracht, wenn man die Milch nur bis auf 60 bis 65° erhitzt hat. Ich bezweifle aber, daß dies die einzigen Faktoren sind, welche den Bakteriengehalt der pasteurisierten Milch beeinflussen. Abgesehen von der größeren oder geringeren Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegen Erhitzung, welche bei den in der Milchhygiene in Betracht kommenden Organismen nur gering ist, und hier also außer Acht gelassen werden kann, gibt es, glaube ich, auch noch andere Umstände, die zu berücksichtigen sind. Um diese Frage zu lösen, welche, wie ich glaube, wohl allgemeines Interesse hat, da ja in sehr vielen Großstädten Europas sich gegenwärtig Geschäfte befinden, welche pasteurisierte Milch dem Publikum verkaufen, stellte ich einige Versuche an, welche hier folgen.

In Amsterdam wird die pasteurisierte Milch von einigen Geschäften den Konsumenten in hermetisch verschlossenen Flaschen überliefert. Der Gehalt dieser Milch an Bakterien ist bei den verschiedenen Geschäften sehr ungleich, wie aus folgender Tabelle (I) hervorgeht: (Siehe Tabelle p. 441.)

Die Milch dieser Geschäfte untersuchte ich mittelst der Guajak-Wasserstoffsuperoxyd-Methode von Arnold Zink. (Eine Guajaktinktur mit einigen Tropfen einer Warserstoffsuperoxydlösung versetzt. War die Milch bis auf 80° und darüber erhitzt, so erzeugt eine kleine Menge der Tinktur, auf die Milchoberfläche gebracht, keine Verfärbung, während im entgegengesetzten Falle an

Tabelle I.

Verzeichnis der Geschäfte	Bakterien pro ccm
Amsterdamsche Melk-Inrichting (A. M. I.)	49 875
Plancius (Pl.)	797
Onderlinge vereeniging van veehouders (O. V. V.)	939
N. V. Holland (N. V. H.)	8 887
Ver. v. Landbouwers (V. v. L.)	11 400
Wildenhorst	6 378
Vondelpark	290
Voorburg	44 490

Die Buchstaben hinter den Namen einiger Geschäfte dienen dazu, um sie damit weiterhin, der Kürze wegen, anzudeuten. Die Zahlen sind dem „Verslag omtrent de verrichtingen van den Gemeentelijken Gezondheidsdienst te Amsterdam" entnommen.

der Grenze der Flüssigkeiten eine blaue Verfärbung eintritt.) Die Resultate dieses Versuches zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Verzeichnis der Geschäfte	Ausfall der Probe
A. M. I.	+
Pl.	—
O. V. V.	—
N. V. H.	—
V. v. L.	—

Hierbei bezeichnet —, daß keine Verfärbung eintrat, + daß Verfärbung eintrat.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der hohe Bakteriengehalt der Milch einiger Geschäfte durchaus nicht dadurch erklärt werden kann, daß sie nicht auf genügend hohe Temperatur erhitzt sei. Vergleicht man z. B. die Milch von Pl. mit durchschnittlich 797 Bakterien pro ccm mit der Milch von N. V. H. mit 8887 Bakterien pro ccm oder mit V. v. L. mit 11 400 Bakterien pro ccm, wobei bei jeder dieser Milchproben die Guajakmethode negativ ausfiel, dann kann man den hohen Bakteriengehalt der Milch von N. v. H. und V. v. L. doch nicht auf ungenügende Erhitzung zurückführen.

Eine andere Tatsache, welche mich veranlaßt hat, zu zweifeln, ob das Abtöten der Bakterien in der Milch lediglich von der Temperatur, bis zu welcher man erhitzt hat, abhängig sei, ist der ungleiche Bakteriengehalt verschiedener Milchproben desselben Geschäfts. Man vergleiche hierzu Tabelle III:

Tabelle III.

Verzeichnis der Geschäfte	Bakterien pro ccm		
	1	2	3
Pl.	114	0	1482
Wildenhorst	15 400	3 080	655
V. V. L.	9 975	12 825	0
N. v. H.	300	20 662	5700

Die Milch wurde in derselben Jahreszeit entnommen, 3 mal hintereinander, mit Pausen von 3—4 Tagen zwischen jeder Probeentnahme.

Die Milch war also in diesen drei Fällen bis auf dieselbe Temperatur erhitzt worden. Dessenungeachtet sind doch sehr große Schwankungen in dem Bakteriengehalt wahrzunehmen. War der Bakteriengehalt nur von der Temperatur abhängig, dann würden Milchproben desselben Geschäfts, wo die Milch jeden Tag auf dieselbe Temperatur erhitzt wird, in ihrem Bakteriengehalt nicht solche große Schwankungen aufzuweisen haben.

Aus diesen Gründen glaube ich anzunehmen berechtigt zu sein, daß der Bakteriengehalt pasteurisierter Milch außer von den Erwärmungsgrad auch noch von anderen Umständen abhängig sei.

Welche sind nun diese Nebenumstände und wie sind sie zu beseitigen? Literatur über diese Frage gibt es, soviel ich weiß, nur sehr wenig: Th. Smith sagt, daß eine relativ niedrige Temperatur genügt, um die Tuberkelbazillen der Milch mit Sicherheit zu töten, wenn man die Häutchenbildung auf der Oberfläche während der Erwärmung verhindert. Die Beobachtungen von Legay, Bech u. a. zeigen, daß man mit einem erheblich höheren Wärmegrad zu rechnen habe, um sicher zu sein, daß die Tuberkelbazillen abgetötet sind, und daß selbst kurz dauerndes Kochen nicht immer genüge, weil es Teile der Milch gibt (oben an den Gefäßen sitzende Tröpfchen von Schaum, Oberflächenhäutchen), welche nicht hinlänglich erhitzt werden. Auch sagt C. O. Jensen (Grundriß der Milchkunde und Milchhygiene. p. 92) bei einer Besprechung eines von Lameris und Harrevelt beschriebenen Krankheitsausbruches in einem Spital infolge des Genusses streptokokkenhaltiger Milch, welche aber vorher gekocht war: „Es mag aber doch wohl wahrscheinlich sein, daß Streptokokken das Kochen der Milch überlebt haben, ähnlicherweise wie Tuberkelbazillen dieses können (in Häutchen, im Schaum, oben am benutzten Löffel oder dergleichen).“ Diese bakterienschützende Wirkung des Häutchens Tuberkelbacillen gegenüber ist nach den Untersuchungen Theobald Smiths (Journal of experimental medicine) sehr groß, indem erst nach einstündigem Kochen die Bacillen abgetötet wurden. L. Heim (Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. V. p. 518) sagte beim Untersuchen blauer Milch, daß die Bakterien, in Milchklümpchen eingeschlossen, gegen äußere schädliche Einflüsse geschützt werden. W. Hesse (Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLII. p. 175) kommt zu denselben Ergebnissen wie Th. Smith. Ich suche nun auch den höheren Bakteriengehalt der auf 80° oder darüber erhitzten pasteurisierten Milch einiger Geschäfte dadurch zu erklären, daß in den Gefäßen, worin die Erhitzung stattfindet, sich Stellen befinden, welche nur ungenügend erhitzt worden. Dabei hatte ich auf vier Stellen Verdacht, daß sie solche „Bakterienasyle“ darstellten, nämlich: 1) Den Gummiring des Verschlusses der Flaschen; 2) die eingetrocknete Milchschicht, welche sich an der Innenwand ungenügend gereinigter Flaschen vorfindet; 3) das Häutchen, welches sich beim Erhitzen auf der Oberfläche der Milch bildet; 4) Schaumbildung.

Ich fing mit der Untersuchung des Verschlusses an. Dieser besteht aus einem Porzellanpfropfen, welcher innen mit einem Gummiring bekleidet ist, der den Zweck hat, die Flasche hermetisch zu verschließen. Dieser Gummiring ist oftmals in recht schlechter Beschaffenheit. Bei einigen Geschäften ist er mit zahllosen kleinen Rissen durchsetzt, bei anderen gibt es überhaupt keinen Gummiring, sondern nur einen Korkring, der auch sehr gerissen ist. Wenn solch ein Ring mit Milch beschmutzt ist, stellt er einen vorzüglichen Nährboden dar für allerhand Luft- und gelegentlich auch Wasserkeime, welche hinaufgeraten. Ich sah oftmals solch einen Gummiring, mit einem grünen Rasen von Penicillium glaucum überzogen.

Um zu entscheiden, ob diese Gummiringe vielleicht eine bakterienschützende Wirkung beim Erhitzen ausüben können, stellte ich folgenden Versuch an: Ich ließ auf einem Stückchen des Gummiringes ein wenig Milch eintrocknen. War alles gut trocken geworden, so wurden die groben Milchteile entfernt. Der Gummi sah nun wie gewöhnlich aus, nur waren die Risse ganz weiß infolge der angetrockneten Milch. Dieser so behandelte Gummiring wurde nun während 1—1$^1/_2$ Minuten in strömendem Dampf auf 88^0 erhitzt. Hierauf wurde er herausgenommen und, natürlich unter allen aseptischen Kauteln, zerschnitten und die Stückchen in ein Reagenzröhrchen mit Nährgelatine geworfen. Dieses Röhrchen wurde nun kräftig umgeschüttelt und danach wurde die Gelatine in einem Petri-Schälchen ausgegossen. Zur Kontrolle stellte ich denselben Versuch an mit einem Deckgläschen. Dieses wurde auch mit Milch getrocknet, pasteurisiert, und in die Gelatine geworfen und eine Schälchenkultur davon angefertigt. Diesen Versuch wiederholte ich mit Gummi- (event. Kork-)Ringen verschiedener Geschäfte, wie aus folgender Tabelle (IV) hervorgeht.

Tabelle IV.

Verzeichnis der Geschäfte	Anzahl pro ccm	Anmerkungen
Pl.	4	Ring ganz intakt
O. V. V.	80	Ring gerissen
N. v. H.	128	Korkring
V. v. L.	136	Ring gerissen
Glas.	0	

Nach 4-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden die Zählungen ausgeführt.

Unter den Bakterien, welche in den Kulturschälchen zur Entwickelung gelangten, fanden sich auch Coli-Bacillen. Dieser Bacillus wird bekanntlich schon bei kurzdauernder Erhitzung auf 70—75^0 abgetötet, er würde also, wenn keine besonderen Umstände hinzukamen, bei einminutiger Erhitzung auf 88^0 sicher abgetötet sein.

Hieraus ist ersichtlich, daß diese Gummiringe eine beträchtliche bakterienschützende Wirkung ausüben können, wenn sie auf irgend welche Weise gerissen sind oder sehr große Poren besitzen,

wie dies bei Korkringen der Fall ist. Der Kontrollversuch mit dem Deckgläschen wurde einige Male wiederholt, um sicher zu sein, daß die niedrige Ziffer nicht die Folge abnormer Umstände, wie ungünstige Beschaffenheit des Nährmediums oder dergleichen, war.

Wie hat man sich nun die bakterienschützende Wirkung gerissener Gummi- oder Korkringe zu erklären? Ich habe dieses auf folgende Weise versucht: Nachdem die Flaschen mit Milch gefüllt, pasteurisiert und verschlossen sind, werden sie den Konsumenten überliefert. Beim Transport schaukelt die Milch hin und her und kommt jeden Augenblick mit dem Gummiring in Berührung. Dieser wird also mit einer Michschicht überzogen. Hierzu gesellt sich aber noch etwas anderes: Beim Schließen der Flaschen wird der Gummiring fest auf die Flasche gedrückt. Hierdurch werden die kleinen Risse und Poren ebenfalls zusammengedrückt und wird also die Luft ausgetrieben. Wird nun die Flasche, wenn sie beim Konsumenten angelangt ist, geöffnet, so öffnen sich auch die zusammengedrückten Risse und Poren, es entstehen luftleere Räume und folglich wird die Milch, welche am Gummiring haften geblieben war, hineingezogen und mit ihr natürlich auch Bakterien, welche sich in der Milch befanden. (Daß die Sache wirklich so verläuft, kann man leicht demonstrieren. Hierzu beschickt man ein Uhrschälchen mit einem Tröpfchen Milch. Man legt ein Stückchen eines gerissenen Ringes darauf und drückt ihn fest an. War der Tropfen nicht zu groß, so wird er ganz von dem Gummi aufgesogen.) Die Milch trocknet in den Rissen ein und wird hier zu einer ziemlich festen Kuchen. Wird nun nachher dieser Gummiring wieder pasteurisiert, so kann der Wasserdampf nicht in die Risse gelangen. Die Bakterien, welche sich hier befanden, auch wenig resistente Formen, wie Coli-Bacillen, werden also nicht abgetötet, weil sie nicht genügend erhitzt werden, und können nachher leicht wieder in die Milch hineingelangen. Sind nun auf irgend welche Weise Krankheitserreger in die Milch gelangt, so werden dieselben auf jene Weise gegen die feuchte Hitze geschützt, können sich nach dem Pasteurisieren ruhig in der Milch weiter entwickeln, so die Ursache von Krankheitsausbrüchen werdend.

Eine zweite Frage ist, wie dieses Uebel zu beseitigen sei. Man könnte natürlich einen ganz anderen Verschluß einführen, etwa wie derjenige, der seit einigen Jahren in Deutschland benutzt wird, nämlich eine paraffinierte Pappscheibe. Diese Scheibe muß dann freilich jedesmal erneuert werden, und man muß gut darauf achtgeben, daß die Rille, welche im Innern des Halses angebracht ist und dazu dient, die Pappscheibe aufzunehmen, gut reinlich gehalten wird. Viel einfacher scheint es mir aber, keinen neuen Verschluß einzuführen, sondern nur darauf zu sehen, daß die Gummiringe peinlichst rein gehalten werden und daß sie erneuert werden, wenn sie gar zu rissig sind.

Um zu sehen, ob mittels einer nicht zu komplizierten Reinigungsmethode die Gummiringe genügend sauber gemacht werden können, stellte ich folgenden Versuch an: Ein Gummiring wurde

mit Milch getrocknet. Hierauf wurde er in einer heißen Sodalösung gereinigt und verblieb während 12 Stunden in dieser Lösung, worauf er herausgenommen und wie gewöhnlich pasteurisiert, zerschnitten und in Gelatine geworfen wurde, aus welcher wieder eine Kultur angefertigt wurde. Nach 6-tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur waren 2 Kolonieen aufgegangen. Bei der mikroskopischen Untersuchung stellte es sich heraus, daß sie dem Subtilis angehörten, welcher bekanntlich der Erhitzung gegenüber sehr widerstandsfähig ist.

Hieraus ist ersichtlich, daß diese Gummiringe ohne allzu große Schwierigkeit genügend keimfrei gemacht werden können. Diese hier beschriebene Reinigungsmethode ist auch deswegen sehr einfach, weil sie mit dem Saubermachen der Flaschen verbunden werden kann, und also die Reinigung sämtlicher Materialien auf einmal geschehen kann.

Jetzt komme ich zu der Frage, ob die größere oder geringere Reinlichkeit der Milchflaschen dazu beiträgt, die Abtötung der Bakterien beim Pasteurisieren zu fördern oder zu hindern. Ich glaube, entschieden das letztere bejahen zu können.

Wenn beim Konsumenten eine Milchflasche entleert ist, wird diese oft, ohne daß sie verschlossen wird, beiseite gestellt. Die Milchschicht, welche an den Wänden hängt, trocknet dabei ein und mit dieser auch die Bakterien, welche von außen her sich in der Milch eingesiedelt hatten oder schon vorher sich dort vorfanden. Hierzu kommt noch, daß vielleicht vor dem Eintrocknen eine reichliche Entwickelung in dieser Schicht stattgefunden hat, weil die leeren Flaschen sehr oft in einer ziemlich warmen Umgebung (Küche) aufbewahrt werden. Wenn nun diese eingetrocknete Bakterien enthaltende Milchschicht vor dem Einfüllen der rohen Milch nicht gründlich beseitigt wird, übt sie eine bedeutende bakterienschützende Wirkung aus, wie aus folgendem Versuch hervorgeht:

Zwei Kölbchen wurden mit pasteurisierter Milch gefüllt und und mit einem Wattepfropfen verschlossen, sie blieben so während einer Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Hiernach wurden sie entleert und blieben noch 2 Stunden ohne Verschluß stehen. Jetzt wurde das eine Kölbchen mit heißer Sodalösung ausgespült und in dieser Lösung während weiteren 2 Stunden belassen, während das andere Kölbchen schmutzig blieb. Nach Ablauf der 2 Stunden wurden die Kölbchen mit roher Milch beschickt und während 15 Minuten auf 85° pasteurisiert. Hierauf wurden aus jedem Kölbchen 2 Oesen Milch entnommen (wobei ich mit der Platinöse die Wand der Kölbchen entlang strich) und diese zu Gelatineplatten verarbeitet. Nach 12 Tagen hatten sich in dem Schälchen, worin Milch aus dem vorher gereinigten Kölbchen geimpft war, nur wenige Kolonieen entwickelt, wogegen im anderen Schälchen 340 Kolonieen aufgegangen waren. Hieraus ist deutlich ersichtlich, daß wirklich der Wandbelag der leeren Milchflaschen eine nicht geringe bakterienschützende Wirkung ausübt. — Das Mittel gegen dieses Uebel ergibt sich von selbst: Man soll die leeren Flaschen mit einer heißen Sodalösung ausspülen, wie dies schon durch einige Geschäfte geschieht.

Wir kommen jetzt zum dritten und vierten Punkt, der Häutchen- und Schaumbildung. Bekanntlich bildet sich beim Erhitzen der Milch ein Häutchen an der Oberfläche. Welchem Umstande dieses Häutchen seine Entstehung verdankt, ist zurzeit noch nicht völlig klargelegt, vielleicht aber rührt es von einer zeitweisen Austrocknung der obersten Schicht her. Wie schon gesagt, haben schon viele ihre Aufmerksamkeit darauf gelenkt und haben nachgeprüft, in wieweit dieses Häutchen beim Kochen der Milch bakterienschützende Wirkung ausüben kann. Aus diesen Untersuchungen geht sehr deutlich hervor, daß Bakterien, in dem Häutchen eingeschlossen, selbst wenig widerstandsfähige Arten, längere Zeit dem Hitzegrad zu widerstehen vermögen, als solche, welche nicht von dem Häutchen geschützt sind. Diese Untersuchungen betrafen aber immer nur das Häutchen, welches sich beim Kochen der Milch bildet und das viel stärker ist, als das, welches beim Pasteurisieren der Milch in Flaschen entsteht.

Ich habe nun untersucht, in wieweit diese Schutzwirkung beim Pasteurisieren der Milch auftritt. Wird die Milch in einer Flasche, wo also nur ein kleiner Teil der Milch mit der Luft in Berührung kommt, bis auf 75—85° erhitzt (in ganz offenen Gefäßen bildet sich schon bei 70° ein Häutchen), so bildet sich ein Häutchen, das allerdings, wie schon gesagt, zarter ist als dasjenige, welches sich in ganz offenen Gefäße bildet.

Um nachzuweisen, in wieweit dieses Häutchen bakterienschützende Wirkung ausübt, habe ich folgenden Versuch angestellt: Ich erhitzte etwas rohe Milch 15 Minuten auf 85°, worauf sich ein Häutchen bildete. Ich ließ die Milch erkalten und verimpfte ein Stückchen des Häutchens in einem Petri-Schälchen mit Nährgelatine. Zur Kontrolle behandelte ich eine gleiche Menge Milch in derselben Weise, nur mit dem Unterschiede, daß durch fortwährendes Bewegen der Milch einer Häutchenbildung vorgebeugt wurde. Nach dem Erkalten wurde von dieser Milch ebenfalls eine Gelatinekultur angefertigt. Die beiden Schälchen wurden bei Zimmertemperatur aufgestellt. Nach 6 Tagen ergab sich, daß in dem Kontrollschälchen keine Entwickelung stattgefunden hatte, wogegen die Gelatine des anderen Schälchens verflüssigt war, sodaß keine Zählung vorgenommen werden konnte. Hieraus ergibt sich, daß das Häutchen, welches sich beim Pasteurisieren der Milch auf Oberfläche bildet, wie dünn es übrigens auch sein möge, stark genug ist, um eine entschiedene bakterienschützende Wirkung ausüben zu können.

Diese Wirkung des Häutchens kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß in das austrocknende Kaseïn Bakterien aufgenommen werden, wie dieses bekanntlich ja auch mit Fetttröpfchen der Fall ist. Die eingeschlossenen Bakterien haben also nur einer trockenen Hitze zu widerstehen (wie diejenigen in den Rissen und Poren der Gummiringe) und bleiben also am Leben.

Man hat versucht, die Häutchenbildung zu beseitigen durch fortwährende starke Bewegung (Tjaden, Kosler und Hirtel, Arbeit aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. XVIII. p. 219).

Der Häutchenbildung gegenüber ist dieses natürlich ein radikales Mittel. Es scheint mir aber viel einfacher, nur bis 65° zu erhitzen, dann aber streng darauf zu achten, daß die Erhitzung während genügend langer Zeit stattfindet. Bei dieser Temperatur tritt auch nur sehr wenig Schaumbildung ein, welche bei 80° schon ziemlich erheblich sein kann und durch die Bewegung noch vermehrt wird.

Nun ist aber die Frage: Kann auch der Schaum, welcher sich beim Erhitzen der Milch ebenfalls an der Oberfläche bildet, bakterienschützende Wirkung ausüben? Dabei ist nicht der Schaum gemeint, welcher sich beim Kochen bildet, in einem Augenblicke ein großes Volum einnehmen kann, dann aber bald wieder verschwindet, sondern der zähe Schaum, welcher sich beim schwächeren Erhitzen bildet, dessen Bläschen unbeweglich sind und auch nicht platzen, und dessen Volum ein konstantes ist. Namentlich das Platzen ist, wie ich glaube, ein sehr wichtiger Faktor, denn, wenn der Schaum bakterienschützende Wirkung ausübt, wird das namentlich dadurch entstehen, daß die Bakterien sich im Innern der Bläschen vorfinden, wo der Dampf sie nicht zu erreichen vermag. Platzen nun die Bläschen jeden Augenblick, so müssen die Bakterien, ihrer schützenden Hülle beraubt, zu grunde gehen, im entgegengesetzten Falle werden sie aber dauernd geschützt. Auch Kühle hat einen solchen Schutz der Luftbläschen beobachtet. Er erhitzte mit Milzbrandsporen infizierte Borsten und sah, daß erstere erst nach 2—3-stündigem Kochen nicht mehr entwickelungsfähig waren. Er führte diese Erscheinung darauf zurück, daß sich zwischen den Borstenhaaren Luftbläschen fanden, in welchen die Milzbrandsporen sich längere Zeit zu erhalten imstande waren.

Ich glaube nun, die Frage, ob der Schaum, welcher sich beim Erhitzen an der Oberfläche der Milch und namentlich an der Wand der Gefäße bildet, bakterienschützende Wirkung ausübt, entschieden bejahen zu können. Hierzu habe ich ein mit Milch gefülltes Kölbchen mit einer Bouillonkultur der Streptococcus pyogenes beschickt, welche bekanntlich Erhitzung gegenüber nur sehr wenig widerstandsfähig ist. Das so behandelte Kölbchen wurde nun während 5 Minuten bei 85° pasteurisiert. Während des Erhitzens hatte sich an der Gefäßwand ein feinwabiger Schaum gebildet. Nach dem Erkalten entnahm ich dem Schaum eine Platinöse voll und verimpfte dieses Material auf Nährgelatine, und ebenso eine Oese Milch. Nach 11 Tagen waren in dem Schaumschälchen 432 Kolonieen aufgegangen, währenddem im Milchschälchen 102 Kolonieen zur Entwickelung gelangten. Ich nahm außerdem noch einen zweiten Versuch vor, indem ich jetzt als Ausgangsmaterial rohe Milch benutzte und nicht mit Streptokokken verunreinigte, wie beim ersten Versuch. Diese Milch wurde während 15 Minuten auf 85° erhitzt. Im Schaumschälchen gingen 8 Kolonieen auf, im Milchschälchen keine einzige. Man sieht hieraus, daß der Schaum entschieden bakterienschützende Wirkung ausüben kann, und daß sich darin auch wenig widerstandsfähige Krankheitserreger lebensfähig erhalten können.

Um die Schaum- und Häutchenbildung zu vermeiden, würde

es meines Erachtens am besten sein, wie schon gesagt, die Milch während längerer Zeit nur auf 60—65° zu erhitzen. Starke Bewegung verhindert freilich die Häutchenbildung, nicht aber die Schaumbildung; sie fördert die letztere sogar und ist darum nicht zu empfehlen.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. F. **Löhnis**.

Mit 5 Tafeln.

(Schluß.)

Benutzt man dagegen zu dem in Rede stehenden Versuch eine Lösung, die der von Hiltner ausgesprochenen Forderung genügt, z. B. die von Giltay[1]) vorgeschlagene, in der der Salpeter die einzige Stickstoffquelle repräsentiert, so werden die Ergebnisse wesentlich andere. Eine Ueberwucherung der Denitrifikanten durch andere, unerwünschte Bakterien findet nicht statt[2]) vielmehr verläuft die Zersetzung des Salpeters den zugesetzten Bodenquantitäten völlig entsprechend: rasch und gleichmäßig bei der Verwendung relativ großer, langsam und ungleichmäßig bei der Verwendung relativ kleiner Impfmengen. (Siehe Tabelle II p. 449.)

Ein Blick auf die Tabelle II läßt hierüber keinen Zweifel; noch klarer lassen aber auch hier wieder die Photogramme (Taf. II—V) die Unterschiede hervortreten; bei No. 1 beginnt die Zersetzung am frühesten, hier sowohl wie auch bei No. 2 stimmen die Parallelen gut überein, in den folgenden Verdünnungen verzögert sich der Anfang der Stickstoffentwickelung immer mehr und die Uebereinstimmung der Parallelen wird ungenügend.

Ganz ebenso wie bei diesem Denitrifikationsversuch kann man auch bei irgend einer anderen durch die Bakterien des Bodens

---

1) Giltay und Aberson, Arch. néerland. T. XXV. p. 342. — Kochs Jahresber. III. p. 226.

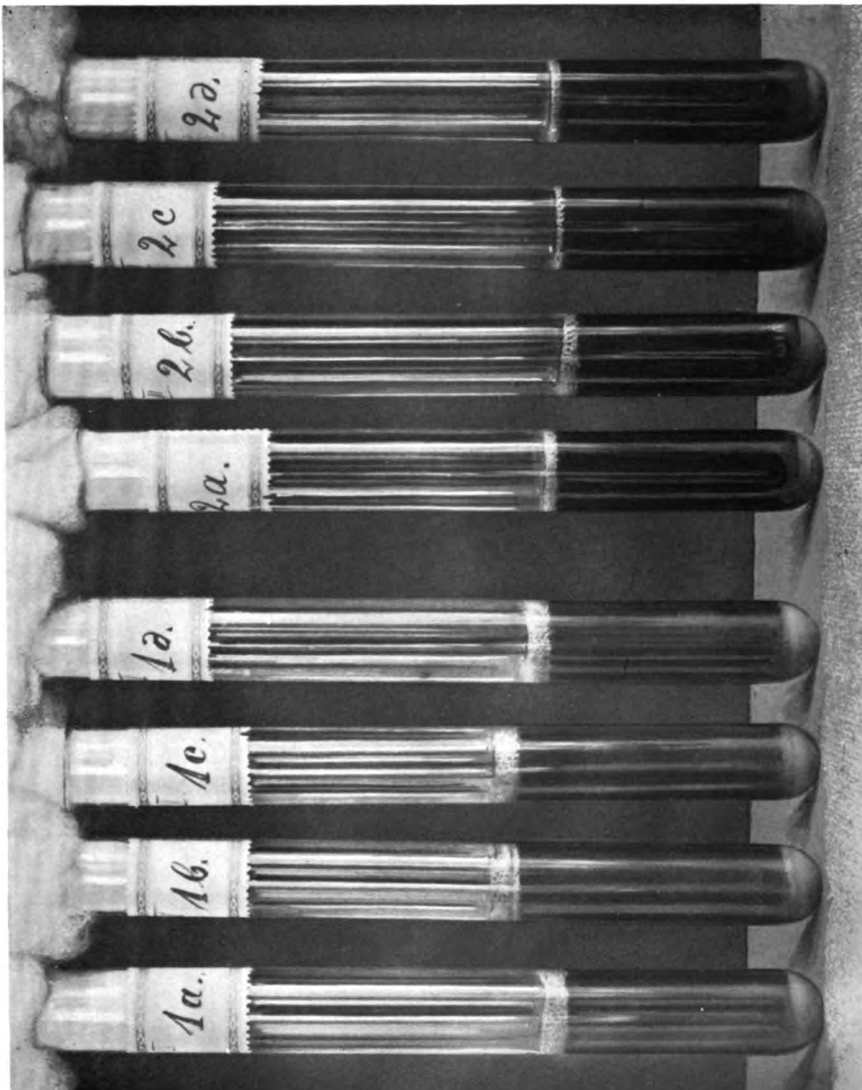
2) Von den das Pepton lebhaft zersetzenden, im Boden verbreiteten Bakterienarten wachsen, soweit meine Beobachtungen reichen, nur B. fluorescens putidus und B. fluorescens liquefaciens gut auf der Giltayschen Lösung. Bei beiden ist aber die Deckenbildung auf dieser Flüssigkeit weniger kräftig als auf Salpeterbouillon. Proteus vulgaris, der die Salpeterbouillon stark trübt und auf derselben eine kräftige Haut bildet, wächst auf der Giltayschen Lösung nicht, B. subtilis bildet keine Spur von Haut, er sammelt sich als flockiger Niederschlag am Boden des Glases. Uebrigens war, wie sich aus Tabelle II ergibt, an 2 der mit 0,1 mg Erde beimpften, Giltaysche Lösung enthaltenden Gläser während 4 Wochen durchaus keine Veränderung bemerkbar, während dagegen in sämtlichen mit der gleichen Menge beimpften, aber Peptonlösung enthaltenden Gläsern schon nach einer Woche eine üppige Bakterienentwickelung beobachtet werden konnte (cf. Tab. III). Auch aus dieser Differenz folgt, daß die Giltaysche Lösung zur Fernhaltung der in Peptonsalpeterbouillon durchweg kräftig wachsenden Peptonbakterien recht gut geeignet ist.



Dr. W. Kuntze phot.

Denitrifikationsversuch mit Salpeterbouillon.
Impfmengen 1000 bezw. 0,01 mg. — Versuchsdauer 5 Tage.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



Dr. W. Kuntze phot.

Denitrifikationsversuch mit Giltayscher Lösung.
Impfmengen 1000 bezw. 500 mg. — Versuchsdauer 5 Tage.

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**



Dr. W. Kuntze phot.

Denitrifikationsversuch mit Giltayscher Lösung.
Impfmengen 100 bezw. 10 mg. — Versuchsdauer 6 Tage.

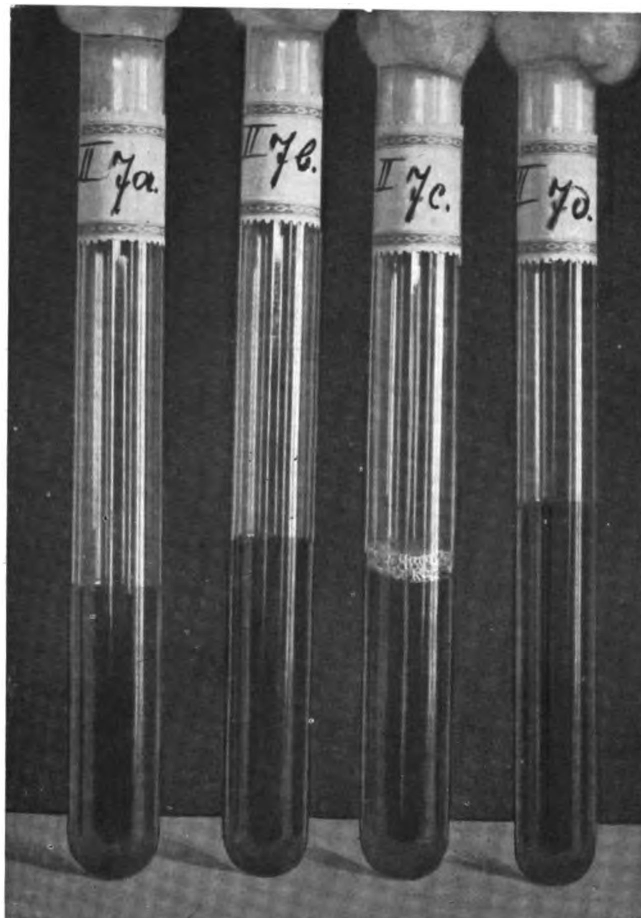
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



Dr. W. Kuntze phot.

Denitrifikationsversuch mit Giltayscher Lösung.
Impfmengen 1 bezw. 0,1 mg. — Versuchsdauer 7 Tage.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



Dr. W. Kuntze phot.

Denitrifikationsversuch mit Giltayscher Lösung.
Impfmenge 0,01 mg. — Versuchsdauer 8 Tage.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Denitrifikation in Giltayscher Lösung. Beginn des Versuches: 28. Januar 1904.

Zeichenerklärung: — Keine Veränderung der Lösung wahrnehmbar. × Trübung, ev. schwache Deckenbildung, keine oder nur ganz vereinzelte Bläschen. + Gärung, lebhafte Blasenbildung. ++ Starke Schaumdecke. R0 Keine Bläuung mit Diphenylamin. R1 Schwache Bläuung mit Diphenylamin. R2 Kräftige Bläuung mit Diphenylamin. R3 Sehr starke Bläuung mit Diphenylamin.

Versuchs-No.	Pro 10 ccm mg Erde	Parallele	Beobachtungstage (Beobachtungszeit stets 10 Uhr vorm.). 31. I.	1. II.	2. II.	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.	7. II.	8. II.	9. II.	10. II.	11. II.	12. II.	13. II.	14. II.	15. II.	16. II.	17. II.	18. II.	19. II.	20. II.	21. II.	22. II.	23. II.	24. II.	25. II.	26. II.	27. II.	28. II.
1	1000	a	+	+	++	R2	R1	R0																							
		b	+	+	++	R1	R1	R0																							
		c	+	+	++	R2	R1	R0																							
		d	×	+	++	R2	R1	R1	R0																						
2	500	a	—	+	+	+	+	R2	R1	R0																					
		b	—	+	+	+	+	R2	R1	R0																					
		c	—	+	+	+	+	R2	R1	R0																					
		d	—	+	+	+	+	R2	R0																						
3	100	a	—	×	+	+	++	R2	R0																						
		b	—	×	×	×	+	R3	R2	R2	R2	R1	R0																		
		c	—	—	×	×	×	R3	R3	R3	R3	+	R2	R0																	
		d	—	—	×	×	×	R3	R3	R3	R3	+	R2	R2	R2	R1	R0														
4	10	a	—	—	+	++	++	+	R0																						
		b	—	—	×	×	+	×	R3	R2	R2	R2	R2	R2	++	R1	R1	R1	R0												
		c	—	—	+	+	+	×	R2	R1	R0																				
		d	—	—	×	×	×	×	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	+	R1	R1	R1	R0								
5	1	a	—	—	×	+	++	+	×	R1	R0																				
		b	—	—	—	×	×	×	×	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	+	R2	R2	R2	R2	R1	R0							
		c	—	—	×	×	×	×	×	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	+	R1	R0										
		d	—	—	—	×	×	×	×	R3	R3	R3	R3	R3	R3	+	R2	R1	R0												
6	0,1	a	—	—	—	—	—	—	—	—	×	×	R3	R3	R3	R3	+	R2	R2	R1	R1	R0									
		b	—	—	—	×	+	++	+	+	+	R1	R0																		
		c	—	—	—	—	×	+	+	+	+	R1	R1	R0																	
		d	—	—	—	×	×	+	+	×	×	R1	R0																		
7	0,01	a	—	—	—	—	—	—	—	×	×	×	×	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	+	R2	R2	R1	R0						
		b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	R3
		c	—	—	—	×	+	++	++	+	+	R1	R1	R1	R1	R0															
		d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	R3

III. Peptonzersetzung.

In 10 ccm der sterilen Lösung: 12,88 mg Gesamtstickstoff, davon 0,546 mg durch Magnesia abspaltbar.

Versuchs-No.	Impf-menge	Versuchs-dauer	Paral-lele	Durch Magnesia abspaltb. N mg	Durch Magnesia abspaltb. N % d. Gesamt-N	Maximal-differenz[1])	Versuchs-dauer	Paral-lele	Durch Magnesia abspaltb. N mg	Durch Magnesia abspaltb. N % d. Gesamt-N	Maximal-differenz[1])
1 A	5 gr in 50 ccm	5 Tage	a	6,468	50,11	2,84 %	10 Tage	e	6,916	53,68	0,63 %
			b	6,370	49,36			f	6,916	53,68	
			c	6,272	48,70			g	6,958	54,02	
			d	6,468	50,11			h	6,916	53,68	
			Mittel:	**6,395**	**49,57**			Mittel:	**6,927**	**53,75**	
1 B	1 gr in 10 ccm	5 Tage	a	5,824	45,22	8,35 %	10 Tage	e	7,266	56,26	4,79 %
			b	5,362	41,63			f	6,818	52,93	
			c	5,586	43,36			g	7,266	56 26	
			d	5,362	41,63			h	7,084	55,00	
			Mittel:	**5,434**	**42,99**			Mittel:	**7,109**	**55,11**	
2	0,5 gr in 10 ccm	5½ Tage	a	5,339	41,45	6,47 %	11 Tage	e	7,448	57,67	10,58 %
			b	5,595	43,44			f	6,678	51,85	
			c	5,249	40,75			g	7,266	56,26	
			d	5,249	40,75			h	7,000	54,35	
			Mittel:	**5,358**	**41,60**			Mittel:	**7,098**	**55,03**	
3	0,1 gr in 10 ccm	6 Tage	a	5,278	40,98	5,40 %	12 Tage	e	6,958	54,02	6,10 %
			b	4,998	38,80			f	7,000	54,35	
			c	5,236	40,65			g	6,818	52,93	
			d	5,278	40,98			h	7,266	56,26	
			Mittel:	**5,198**	**40,35**			Mittel:	**7,006**	**54,39**	
4	10 mg in 10 ccm	6½ Tage	a	5,278	40,98	12,30 %	13 Tage	e	6,678	51,85	16,47 %
			b	4,676	36,30			f	6,678	51,85	
			c	4,914	38,15			g	6,090	47,25	
			d	4,732	36,74			h	7,182	55,76	
			Mittel:	**4,900**	**38,04**			Mittel:	**6,657**	**51,68**	

Versuchs-No.	Impfmenge	Versuchsdauer	Parallele	Durch Magnesia abspaltb. N: mg	Durch Magnesia abspaltb. N: % d. Gesamt-N	Maximaldifferenz[1])	Versuchsdauer	Parallele	Durch Magnesia abspaltb. N: mg	Durch Magnesia abspaltb. N: % d. Gesamt-N	Maximaldifferenz[1])
5	1 mg in 10 ccm	7 Tage	a	4,368	33,91	20,86 %	14 Tage	e	6,370	49,46	10,22 %
			b	4,270	33,15			f	6,734	52,28	
			c	4,452	34,57			g	6,272	47,14	
			d	5,278	40,98			h	6,734	52,28	
			Mittel:	**4,592**	**37,54**			Mittel:	**6,528**	**50,29**	
6	0,1 mg in 10 ccm	7½ Tage	a	2,772	21,52	66,56 %	15 Tage	e	5,096	39,56	18,05 %
			b	3,276	25,43			f	6,090	47,25	
			c	2,548	19,78			g	5,236	40,65	
			d	4,732	36,74			h	5,502	42,72	
			Mittel:	**3,307**	**25,87**			Mittel:	**5,481**	**42,60**	
7	0,01 mg in 10 ccm	8 Tage	a	2,688	20,87	36,95 %	16 Tage	e	4,004	31,09	69,60 %
			b	2,268	17,61			f	2,632	20,43	
			c	2,002	15,53			g	3,094	24,02	
			d	2,912	22,61			h	5,236	40,65	
			Mittel:	**2,468**	**19,16**			Mittel:	**3,742**	**29,05**	
8	0,001 mg in 10 cm	8½ Tage	a	1,176	9,13	54,28 %	17 Tage	e	3,780	29,35	56,34 %
			b	1,456	11,30			f	2,100	16,30	
			c	1,456	11,30			g	2,800	21,74	
			d	2,002	15,54			h	2,800	21,74	
			Mittel:	**1,523**	**11,82**			Mittel:	**2,870**	**22,28**	
9	0,0001 mg in 10 ccm	9 Tage	a	0,546	4,24	69,27 %	18 Tage	e	0,546	4,24	? [2])
			b	0,966	7,50			f	1,400	10,87	
			c	1,092	8,48			g	0,546	4,24	
			d	0,546	4,24			h	0,546	4,24	
			Mittel:	**0,788**	**6,12**			Mittel:	**0,760**	**5,90**	

1) d. h. Differenz zwischen den für die betr. 4 Parallelen ermittelten höchsten und niedrigsten Zahlen, berechnet in Prozenten der Mittelwerte.

2) Da nur in einem Glase Zersetzung stattfand, ist eine Maximaldifferenz nicht zu ermitteln.

IV. Harnstoffzersetzung.

Beginn des Versuches: 7. Februar 1904. — Zur Neutralisation von 1 ccm der sterilen Lösung sind 0,4 ccm $\frac{n}{20}$ Schwefelsäure erforderlich.

Versuchs-No.	Pro 10 ccm mg Erde	Parallele	Zur Neutralisation von je 1 ccm Lösung waren an $\frac{n}{20}$-H_2SO_4 (in ccm) erforderlich am:									
			9. II.	11.II.	13.II.	15.II.	17.II.	19.II.	21.II.	23.II.	25.II.	27.II.
1	1000	a	2,5	10,5	24,5	26,6	23,8					
		b	2,6	12,5	23,0	25,6	23,2					
		c	2,6	12,1	24,6	25,5	24,0					
		d	2,3	11,0	23,3	25,4	23,8					
		Mittel:	**2,5**	**11,5**	**23,9**	**25,8**	**23,7**					
2	500	a	1,9	12,4	22,8	26,0	24,1					
		b	2,0	12,1	22,0	22,2	20,8					
		c	2,9	10,2	24,0	25,8	24,6					
		d	1,5	8,9	20,5	25,4	21,7					
		Mittel:	**2,1**	**10,9**	**22,3**	**24,9**	**22,8**					
3	100	a		8,8	21,3	26,1	26,1	22,9	19,8			
		b		3,4	13,4	19,6	22,6	20,0	18,6			
		c		2,1	7,5	12,4	15,8	18,4	17,3			
		d		2,5	11,8	19,1	20,2	21,5	21,0			
		Mittel:		**4,2**	**13,5**	**19,3**	**21,2**	**20,7**	**19,2**			
4	10	a		1,0	3,6	8,7	16,2	20,0	18,0			
		b		1,0	5,0	10,0	12,7	14,4	10,4			
		c		1,4	4,9	8,1	9,1	9,4	9,0			
		d		0,6	6,5	14,6	20,2	19,0	15,8			
		Mittel:		**1,0**	**5,0**	**10,4**	**14,45**	**15,7**	**13,3**			
5	1	a			2,0	4,1	5,9	8,7	9,6	9,7	7,6	6,2
		b			1,9	4,5	6,4	7,0	9,0	9,3	8,8	7,2
		c			2,0	3,6	6,6	9,1	9,9	10,6	12,0	11,0
		d			1,8	4,0	7,0	13,1	15,8	16,5	18,0	14,9
		Mittel:			**1,9**	**4,1**	**6,5**	**9,5**	**11,1**	**11,5**	**11,6**	**9,8**
6	0,1	a			1,8	4,3	4,8	7,4	8,3	8,4	8,9	6,9
		b			1,4	2,9	4,4	6,7	7,0	6,2	5,4	4,1
		c			2,2	4,6	6,6	7,9	8,4	7,1	5,8	4,5
		d			1,7	3,4	4,3	6,3	6,4	5,0	4,4	3,3
		Mittel:			**1,8**	**3,8**	**5,0**	**7,1**	**7,5**	**6,7**	**6,1**	**4,7**
7	0,01	a			0,4	0,4	0,4	0,4	0,4			
		b			0,4	0,4	0,4	0,4	0,4			
		c			2,3	3,9	7,0	6,5	6,4			
		d			0,5	2,5	2,8	3,3	2,6			
		Mittel:[1]			**1,4**	**3,2**	**4,9**	**4,9**	**4,5**			

1) Berechnet nach den Ergebnissen c und d unter Fortlassung der für die sterilen Gläser a und b ermittelten Zahlen.

V. Nitrifikation.

Beginn des Versuches: 12. Februar 1904. — Dauer: 30 Tage.

50 ccm der benutzten Lösung enthalten 10,30 mg Ammoniakstickstoff.

Versuchs-No.	Pro 50 ccm mg Erde	Parallele	Salpeterstickstoff in 50 ccm Lösung insgesamt mg	aus Ammoniak mg	aus Ammoniak Proz.	Maximal-differenz
1	5000	steril	2,52	—	—	
		a	8,11	5,59	54,27	17,55 %
		b	7,48	4,96	48,15	
		c	8,43	5,91	57,38	
		d	7,96	5,44	52,72	
		Mittel:	.	5,48	53,13	
2	1000	steril	2,10	—	—	
		a	6,37	4,27	41,46	30,79 %
		b	6,84	4,74	46,02	
		c	7,96	5,76	55,92	
		d	6,68	4,58	44,66	
		Mittel:	.	4,84	47,02	
3	100	steril	1,96	—	—	
		a	4,62	2,66	25,82	67,73 %
		b	4,30	2,34	22,72	
		c	4,14	2,18	21,17	
		d	6,05	4,09	39,71	
		Mittel:	.	2,82	27,36	
4	10	steril	1,96	—	—	
		a	3,42	1,46	14,17	119,85 %
		b	3,17	1,21	11,75	
		c	5,57	3,61	34,17	
		d	6,37	4,41	42,82	
		Mittel:	.	2,67	25,73	
5	1	steril	1,89	—	—	
		a	2,23	0,34	3,30	152,69 %
		b	1,91	—	—	
		c	3,66	1,77	17,18	
		d	4,78	2,89	28,06	
		Mittel:	.	1,67	16,18	
6	0,1	steril	1,89	—	—	
		a	2,70	0,81	7,86	49,65 %
		b	1,91	—	—	
		c	3,50	1,61	15,63	
		d	2,70	0,81	7,86	
		Mittel:	.	1,08	10,45	
7	0,01	steril	1,89			
		a	1,91	—[1])	—	—
		b	2,07			
		c	1,83			
		d	1,83			
		Mittel:	.			

1) Die in der Versuchsreihe 7 gefundenen Mengen an Salpeterstickstoff weichen so wenig von dem für den sterilen Kolben ermittelten Werte ab, daß eine Umsetzung des Ammoniakstickstoffes als ausgeschlossen betrachtet werden dürfte.

veranlaßten Umsetzung, zweckmäßige Wahl der Nährlösung vorausgesetzt, konstatieren, daß der betreffende Prozeß bei Verwendung einer relativ großen Impfmenge früh einsetzt, kräftig und gleichmäßig verläuft, während dagegen bei Anwendung der von Hiltner empfohlenen kleinen Impfmengen das Gegenteil zu beobachten ist. Es kommt eben bei derartigen Untersuchungen darauf an, die Impfmenge wenigstens so groß zu wählen, daß man sicher ist, Vertreter sämtlicher Bakterienarten, die in dem betreffenden Boden an der in Frage kommenden Umsetzung beteiligt sind, in die Lösung zu übertragen. Wenn nun diese Forderung allerdings wahrscheinlich oft schon bei Verwendung eines Milligramms Erde erfüllt sein dürfte, so ist es doch zweckmäßiger, größere Erdmengen (10 g auf 100 ccm Lösung) zu verwenden, weil erstens die Erde des Ackers trotz sorgfältigen Mischens in den kleineren Portionen doch recht ungleichmäßig bleibt, was ein ungenügendes Uebereinstimmen der betreffenden Parallelversuche zur Folge hat, und weil es zweitens vorteilhaft erscheint, durch eine größere Impfmenge eine kräftige und relativ rasch verlaufende Umsetzung herbeizuführen.

VI. Stickstoffassimilation.
Beginn des Versuches 12. II. 1904. — Dauer: 30 Tage.

Versuchs-No.	Pro 100 ccm an Erde	Verlauf des Versuches	Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Parallele	N insgesamt mg	N assimiliert mg	Maximal-Differenz
1	10 g	Am 19. II. beginnt die Bildung einer hauptsächlich aus Azotobakter bestehenden Decke, die rasch an Masse zunimmt und sich schwarz färbt.	steril	9,94	—	
			a	16,24	6,30	8,51%
			b	16,52	6,58	
			c	16,52	6,58	
			d	16,80	6,86	
			Mittel:	.	**6,58**	
2	1 g	Am 23. II. beginnt die Entwickelung an der Oberfläche; später ist die Lösung erfüllt von voluminösen flockigen weißen Bakterienmassen.	steril	1,82	—	
			a	5,46	3,64	52,78%
			b	8,12	6,30	
			c	7,00	5,18	
			d	6,86	5,04	
			Mittel:	.	**5,04**	
3	0,1 g	Am 26. II. beginnt eine schwache Entwickelung; weiterhin entstehen ähnliche aber nicht so massige Bakterienansammlungen in der Lösung wie bei 2. Geruch nach Buttersäure.	steril	0,91	—	
			a	3,50	2,59	67,47%
			b	2,80	1,89	
			c	4,48	3,57	
			d	2,80	1,89	
			Mittel:	.	**2,49**	
4	10 mg	Nur in einer Parallele (c) schwache Entwickelung.	steril	0,84	—	
			c	2,52	1,68	
5	1 mg	In einer Parallele (e) sehr schwache Entwickelung.	steril	0,84	—	
			c	1,54	0,70	
6	0,1 mg	Keine wahrnehmbare Entwickelung.				
7	0,01 mg	Keine wahrnehmbare Entwickelung.				

Als Belege für die Zweckmäßigkeit eines derartigen Verfahrens mögen die in den Tabellen III—VI mitgeteilten Zahlen über den Verlauf der Peptonzersetzung, der Ammoniakbildung aus Harnstoff, der Nitrifikation sowie der Stickstoffassimilation dienen. Die Ergebnisse sind so klar, daß ich mich auf wenige Bemerkungen beschränken kann.

Was zunächst die Lösungen anlangt, so wurde benutzt:

1) Für die Peptonzersetzung: 1 g Pepton (e carne Merck, = 0,1288 g N) in 100 ccm Leitungswasser; zu je 10 ccm in Reagenzgläsern, mit Ausnahme der Versuchsreihe 1 A (5 g Erde), bei der die erforderlichen 50 ccm Lösung in 100 ccm-Kolben (sog. Jenaer Verbrennungskölbchen) eingefüllt waren.

2) Für die Harnstoffzersetzung: 10-proz. Harnstoffbouillon nach Beijerinck[1]); zu je 10 ccm in Reagenzgläsern.

3) Für die Nitrifikation: die von Omelianski[2]) für die Nitritbakterien vorgeschlagene Lösung, die ich dahin abgeändert habe, daß ich statt 2 nur 1‰ $(NH_4)_2SO_4$ verwende, da in diesem Falle die Salpeterbildung wesentlich rascher verläuft; zu je 50 ccm unter Zusatz von Kreide in 300 ccm-Erlenmayer-Kolben.

4) Für die Stickstoffassimilation: die von Beijerinck[3]) für die Anreicherung von Azotobakter benutzte Mannitlösung, bei deren Herstellung ich jedoch nur 1 nicht 2 Proz. Mannit in Anwendung bringe, da sich die Stickstofferntе im Verhältnis zur Kohlenstoffquelle bei Verwendung von 1 Proz. ungefähr ebenso günstig (oft sogar günstiger) stellt wie bei Benutzung von 2 Proz.[4]); zu je 100 ccm in 300 ccm-Erlenmayer-Kolben.

Betreffs der analytischen Methoden ist zu bemerken:

1) Aus je 10 ccm der zersetzten Peptonlösung wurde mittels Magnesia usta das Ammoniak abdestilliert und in $\frac{n}{20}$ Schwefelsäure (1 ccm entspricht 1,4 mg N) aufgefangen.

2) Das in der Harnstofflösung gebildete Ammonkarbonat wurde in je 1 ccm mit $\frac{n}{20}$-Schwefelsäure titriert.

3) Die gebildete Salpetersäure[5]) wurde nach erfolgtem Abdestillieren des noch vorhandenen Ammoniaks mittels Natronlauge, durch 12-stündige Einwirkung von Natronlauge, Zink und Eisen reduziert, danach ebenfalls als Ammoniak abdestilliert und in $\frac{n}{20}$-Schwefelsäure aufgefangen.

4) Zur Feststellung der Menge des assimilierten Stickstoffs

1) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 41.

2) Omelianski, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 539.

3) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 6.

4) Gerlach und Vogel (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902 p. 819) haben gefunden, daß innerhalb 5 Wochen bei Verwendung von 1 Proz. Traubenzucker 91,4, in einer 1,5 Proz. enthaltenden Lösung dagegen nur 62,9 mg N pro Liter fixiert wurden. Eigene vergleichende Versuche ergaben z. B. für die 1-proz. Mannitlösung 6,58, für die 2-proz. Lösung 6,82 mg Stickstoffgewinn pro 1000 mg Mannit innerhalb 4 Wochen.

5) Die Spuren von salpetriger Säure, die mittels Phenylendiamin in einigen Gläsern ermittelt wurden, wurden nicht gesondert quantitativ bestimmt.

wurde die Lösung unter Zusatz von Schwefelsäure eingedampft und nach Kjeldahl verbrannt[1]).

Stellt man die Zahlen, eventuell bei wiederholten Analysen, wie sie bei der Pepton- und bei der Harnstoffzersetzung ausgeführt wurden, die Durchschnittszahlen, welche die Differenz zwischen den für die betreffenden 4 Parallelen ermittelten höchsten und niedrigsten Befunden angeben, in Prozenten der jeweils gefundenen Mittelwerte ausgedrückt, nebeneinander, so erhält man folgende Uebersicht.

Die Maximaldifferenzen betragen in Prozenten der Mittelwerte[2]):

Bei Verwendung von	Bei der Peptonzersetzung	Bei der Harnstoffzersetzung	Bei der Nitrifikation	Bei der N-Assimilation
10 g Erde	—	—	—	8,51
5 „ „	1,74	—	17,55	—
1 „ „	6,57	6,87	30,79	52,78
0,5 „ „	8,53	19,28	—	—
0,1 „ „	5,75	53,82	67,73	67,47
10 mg Erde	14,39	68,17	119,85	?[3])
1 „ „	15,54	64,06	152,69	?[3])
0,1 „ „	41,81	46,44	49,65	—
0,01 „ „	53,28	76,17	—	—
0,001 „ „	56,43	—	—	—
0,0001 „ „	69,27	—	—	—

Beim Zählen der gelatinewüchsigen Bakterien fand Hiltner als mittleren Fehler eine Abweichung von 8—10 Proz., die in Ausnahmefällen bis auf 15 Proz. stieg[4]). Berechnet man aber für die von ihm mitgeteilten Parallelzahlen die Differenzen zwischen den höchsten und niedrigsten Befunden in Prozenten der Mittelwerte, so ergibt sich z. B. für eine recht gut übereinstimmende, 4 Platten umfassende Parallelreihe[5]), bei der der mittlere Fehler nur ± 3,67 Proz. beträgt, eine Maximaldifferenz von 17,81 Proz. Dagegen wurde, wie oben mitgeteilt, als höchste Abweichung nur eine solche von 1,74 Proz. gefunden, wenn 5 g Erde zur Einleitung der Peptonzersetzung verwendet wurden, bei welchem Prozeß ja gerade jene Bakterienarten (wie Mycoides, B. mesentericus, Proteus vulgaris, B. subtilis, fluorescens liquefaciens u. a.) vorwiegend beteiligt sind, die auch gewöhnlich eine nicht unbedeutende Rolle auf der mit Bodenaufschwemmung infizierten Gelatineplatte

1) Diphenylamin rief nur in 3 Gläsern (1a, 1b und 2a) eine schwache Bläuung hervor.

2) Ein — bedeutet, daß in dem betreffenden Falle keine Untersuchung ausgeführt wurde, bezw. keine Umsetzung mehr stattfand.

3) Weil nur je ein Glas sich als infiziert erwies, war eine Differenzberechnung nicht möglich.

4) l. c. p. 456.

5) l. c. p. 458.

spielen. Aber selbst die für die offenbar viel weniger zahlreich als jene eiweißzersetzenden Bakterien im Boden vorhandenen Harnstoffbakterien, stickstoffassimilierenden und nitrifizierenden Organismen ermittelten Maximaldifferenzen halten sich mit 6,87, 8,51 bezw. 17,55 Proz. immer noch unterhalb jenes beim Zählen erlangten Ergebnisses, das, wie gesagt, als recht gut bezeichnet werden muß, denn für eine andere von Hiltner angeführte Parallelreihe [1]), bei der der mittlere Fehler $\pm$ 12,09 Proz. beträgt, die aber noch keineswegs als ungenau anzusehen ist, beträgt die Maximaldifferenz 46,86 Proz., ist also rund 3—7 mal so groß als die für die selteneren Bodenbakterien bei Verwendung großer Impfmengen gefundenen Abweichungen. Noch beträchtlicher als diese Zahl sind allerdings die Differenzen, die sich bei Verwendung geringer Impfmengen für die verschiedenen Umsetzungen ergeben, was eben beweist, daß bei weitgehender Verdünnung die Sicherheit des Endresultats durch Zufälligkeiten sehr in Frage gestellt wird.

Ueber den Verlauf der vier zur Untersuchung herangezogenen Stickstoffumsetzungen ist im einzelnen noch folgendes zu bemerken:

1) Daß die Versuchsreihen 1 A und 1 B der Peptonzersetzung, trotzdem in beiden Fällen die zugesetzte Erdmenge sich zur benutzten Lösung wie 1 : 10 verhielt, so beträchtlich voneinander abweichende Resultate geliefert haben, hat sehr wahrscheinlich seinen Grund darin, daß die Zersetzung in 1 A einen besonders raschen Verlauf nahm, weil der Luftzutritt zu der (im 100 ccm-Kolben befindlichen) Lösung ein wesentlich ausgiebigerer war als in den Reagenzgläsern. Im ersteren Falle verhielt sich der Oberflächendurchmesser zur Höhe der Flüssigkeitsschicht wie 3 : 1, im letzteren Falle dagegen wie 1 : 3. Hiermit steht in Zusammenhang, daß bei der nach 10 Tagen ausgeführten Analyse die gefundene Ammoniakmenge bei 1 A geringer ist als bei 1 B (und sogar bei 2 und 3), denn wie mir aus früheren Versuchen bekannt ist, findet bei Verwendung von Pepton Merck, nachdem als Maximum für die Ammoniakbildung etwa die Prozentzahl 60 erreicht ist, neben nicht unbedeutenden Stickstoffverlusten (bis zu 40 Proz. wurden beobachtet) eine Rückbildung des Ammoniakstickstoffs in organischen Stickstoff statt. 4 Proben von 1 A, die ich nach Verlauf von 3 Wochen analysierte, ergaben nur noch im Mittel 41,04 Proz. durch Magnesia abspaltbaren Stickstoff.

2) Der in bezug auf die Genauigkeit der für den Verlauf der Harnstoffzersetzung ermittelten Zahlen etwa mögliche Einwand, daß die Resultate darunter zu leiden hätten, daß ein nicht bestimmter Teil des gebildeten Ammoniaks verdunstete (was zur Folge hatte, daß als höchste Zahl beim Titrieren nicht 33,3 ccm Säure, die der Berechnung nach zur Neutralisation des der zugesetzten Harnstoffmenge entsprechenden Ammoniakstickstoffs erforderlich gewesen wären, sondern nur 26,6 ccm gefunden wurden), kann die Brauchbarkeit der mitgeteilten Ergebnisse aus folgenden Gründen nicht herabsetzen. Erstens nämlich dürfte die Ver-

1) l. c. p. 459.

dunstungsgröße in allen Gläsern ziemlich die gleiche gewesen sein, und zweitens ist, soweit meine Erfahrung reicht, auch dann nicht auf so gut übereinstimmende Resultate, wie sie in den ersten Nummern der Peptonreihe erlangt wurden, zu rechnen, wenn das verdunstende Ammoniak ebenfalls bestimmt wird. So erhielt ich z. B. bei derartigen Versuchen, wo Verluste an NH_3 so gut wie ausgeschlossen waren[1]), bei Verwendung von 10 g Erde pro 100 ccm 5-proz. Harnstofflösung (mit 2,168 g N) folgende Parallelzahlen für den in 100 ccm befindlichen bezw. daraus verdunsteten Ammoniakstickstoff insgesamt in g:

1. Analyse		2. Analyse		3. Analyse	
1,0424	Differenz: 14,16 Proz.	1,7840	Differenz: 8,13 Proz.	2,1456	Differenz: 5,58 Proz.
0,9640		1,7420		2,1964	
1,0912		1,8867		2,2280	
0,9480		1,7443		2,1070	
Mittel: 1,0114		Mittel: 1,7893		Mittel: 2,1695	

Die Differenz beträgt also auch in diesem Falle trotz der relativ reichlichen Impfmenge und trotz Vermeidung irgend welcher Verluste im Durchschnittt 9,29 Proz.

Wie sich aus der Tabelle ergibt, wurden die Titrationen in jeder Versuchsnummer nur so lange fortgesetzt, bis alle 4 Parallelen den Höhepunkt der Ammoniakbildung überschritten hatten. Die etwa späterhin noch aus bis dahin intakt gebliebenem Harnstoff abgespaltenen Ammoniakmengen waren wegen der stattfindenden Verdunstung nicht nachweisbar. Durch wiederholt vorgenommene Nachprüfungen überzeugte ich mich, daß ein nochmaliges Ansteigen der zur Neutralisation erforderlichen Säuremenge in keinem Falle auftrat.

3) Bei dem Nitrifikationsversuch zeigt sich ganz besonders deutlich erstens die Zweckmäßigkeit der Verwendung großer Impfmengen und zweitens die Notwendigkeit der quantitativen Festlegung der Versuchsergebnisse. Die Prüfung mit Phenylendiamin und Diphenylamin, wie sie Remy[2]) ausführte, ist keineswegs ausreichend, sowohl zu Vergleichszwecken wie auch namentlich dann nicht, wenn man nach Hiltners Methode diejenige geringste Menge Erde ermitteln will, in der sich Nitrifikationsorganismen noch vorfinden. Denn die aus der salpetrigen Säure der Laboratoriumsluft gebildete Salpetersäure ruft nach 4 Wochen gewöhnlich auch in den sterilen Kolben deutliche Bläuung mit Diphenylamin hervor, auf welche Erscheinung Rullmann[3]) nachdrücklich aufmerksam gemacht hat. Durch diesen Umstand ist es wohl zu erklären, daß es Hiltner[4]) nicht gelang, die nitrifizierenden Organismen der Zahl nach zu bestimmen. Daß in den zu den ersten Nummern der Versuchsreihe gehörenden sterilen Kolben etwas mehr Salpeter-

1) Ganz geringe Verluste bei der Entnahme der zur Titration benötigten Proben sind natürlich unvermeidlich, kommen aber wegen ihrer verschwindenden Größe nicht in Betracht.

2) Remy, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 699 f.

3) Rullmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 212, 713.

4) l. c. p. 502.

stickstoff gefunden wurde, als in den mit wenig Erde versetzten, hat seinen Grund darin, daß durch das angewandte analytische Verfahren ein Teil des Bodenstickstoffs mit bestimmt wird. Uebrigens ist die in der sterilen Lösung nach 4 Wochen gefundene, nahezu 2 mg (oder genauer genommen[1]) etwa 1,5 mg) betragende Menge an Salpeterstickstoff ziemlich beträchtlich in Anbetracht des Umstandes, daß auch diese Versuchsreihe wie alle andern bei 20° C gehalten wurde.

4) Daß eine Entwickelung stickstofffixierender Bakterien während des Zeitraumes von 4 Wochen in den Versuchsgefäßen, die mit weniger als 0,1 g Erde geimpft waren, nur sporadisch (in 2 Fällen: 4c und 5c) eintrat, stimmt mit den Angaben Beijerincks[2]) überein, daß es zur Erzielung einer guten Rohkultur von Azotobakter und dessen Begleitern nötig sei, die Mannitlösung mit einer „reichlichen Menge" 0,1—0,2 g Erde zu versetzen. Nach Gerlach und Vogel[3]) ist es sogar empfehlenswert, von einer wesentlich größeren Menge (20 g Erde) auszugehen. —

Es ist immerhin von einigem Interesse, daß, wie die mitgeteilten Versuchsresultate zeigen, in je 1 g Erde, die der Ackerkrume eines in hoher Kultur stehenden Feldes aus 10 cm Tiefe im Monat Januar entnommen war, unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen neben etwa 5 Millionen peptonzersetzenden, 50—70000 denitrifizierenden und rund 50000 harnstoffzersetzenden Bakterien nur etwa 7000 nitrifizierende und sogar nur ca. 20 stickstoffassimilierende Mikroorganismen nachgewiesen werden konnten.

Nach meinem Dafürhalten genügen die angeführten Resultate, um die Zweckmäßigkeit der Verwendung relativ großer Impfmengen bei Untersuchungen hinsichtlich des bakteriellen Charakters eines oder mehrerer Böden darzutun. Die von Hiltner empfohlene Verdünnungsmethode genügt diesem Zwecke nur sehr unvollkommen; daß sie die ungefähre Ermittelung der Zahl der an einer bestimmten Umsetzung beteiligten Organismen gestattet, kann sie manchmal am Platze erscheinen lassen (von erheblicher Wichtigkeit ist dieser Gesichtspunkt, wie gesagt, nicht), außerdem kommt ihr noch in zwei, von Hiltner nicht erwähnten Richtungen, einige Bedeutung zu. Man kann sie nämlich erstens nach Art der alten Pasteur-Cohnschen Verdünnungsmethode bei der Isolierung der verschiedenen an der betreffenden Umsetzung beteiligten Bakterienarten benutzen, um mit möglichster Sicherheit jede wichtige Art zu erhalten; allerdings ergibt sich hierbei der Nachteil, daß man in diesem Falle eine hinreichend große Zahl von Parallelversuchen durchzuführen genötigt ist, etwa nach Miquels Vorschrift[4]) 30—40

1) Der gefundene Stickstoffbetrag muß nämlich eigentlich stets um 0,5 mg vermindert werden, weil beim Destillieren einer stickstofffreien Lösung 0,3—0,4 ccm $\frac{n}{20}$-Säure (entsprechend 0,42—0,56 mg N) durch das Alkali, welches während der Destillation ans den Glasteilen des Apparates gelöst wird, gebunden werden.

2) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 568.

3) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 674.

4) Nach Hüppe, Methoden der Bakterienforschung. 5. Aufl. 1891. p. 313.

Einzelversuche, von denen $^1/_4$ steril bleiben muß. Nach Hüppes Ansicht[1]) ist diese Methode „zur Isolierung differenter Arten aus einem Gemische von Mikroorganismen ausgezeichnet geeignet". Zweitens gestattet das Hiltnersche Verfahren, selten in dem betreffenden Boden vorkommende Bakterien zu erlangen, die manchmal zufällig in die mit den geringsten Impfmengen versetzten Gläser gelangen und sich dort reichlich vermehren, während man dieselben natürlich nicht zu sehen bekommt, wenn man ausgehend, von den mit reichlichen Erdmengen beimpften Lösungen, in denen die in dem betreffenden Falle am häufigsten vorkommenden Arten jene unterdrücken, zur Isolierung das Plattenverfahren anwendet. So erhielt ich einmal bei dem Peptonversuche einen violetten Bacillus (wahrscheinlich B. janthinus), der mir bis dahin trotz andauernder Beschäftigung mit dem zum Versuche benutzten Boden in demselben noch nie begegnet war. Indessen ist dieser Umstand zwar für den Systematiker beachtenswert, für den landwirtschaftlichen Bakteriologen dagegen ist er nur von sehr untergeordneter Bedeutung.

Wenn ich also durch meine vorstehenden Darlegungen glaube nachgewiesen zu haben, daß man bei Untersuchungen über die Wirksamkeit der verschiedenen Gruppen von Bodenbakterien zuverlässige Resultate nur dann erhalten kann, wenn man relativ reichliche Erdmengen zur Beimpfung zweckentsprechender Lösungen benutzt und demnach das oben zitierte Urteil Hiltners über die Remysche Methode nicht als zutreffend bezeichnet werden kann, so genügt dieses Verfahren doch noch nicht, wenn es sich darum handelt, feine Unterschiede, die sich auf ein und demselben Boden einstellen, deutlich nachzuweisen. Remy arbeitete mit Böden verschiedenen Ursprungs, wobei Unterschiede naturgemäß leichter aufzufinden waren.

Ich ließ auf der einen Hälfte eines Feldes des Universitätsgutes Oberholz die Stoppel sofort nach der Ernte umbrechen, während dieselbe auf der anderen Hälfte unberührt liegen blieb. Es ergab sich dann z. B., daß durch Denitrifikation in Giltayscher Lösung[2]) an Stickstoff in Prozenten des zugesetzten Salpeterstickstoffs verloren ging:

	Geschälte Parzelle	Nicht geschälte Parzelle
vor dem Schälen (25. VIII.)	68,87 Proz.	68,17 Proz.
$2^1/_3$ Monate später (6. XI.)	61,94 „	62,30 „
$4^2/_3$ „ „ (15. I.)	53,90 „	52,55 „

Der hemmende Einfluß des Winters tritt zwar deutlich hervor, dagegen sind Unterschiede, die auf die verschiedene Bearbeitungsweise der beiden Parzellen zurückzuführen wären, nicht zu konstatieren. Die kleinen Differenzen zwischen den Ergebnissen liegen völlig innerhalb der Fehlergrenzen.

In der 1-proz. Mannitlösung, wie sie zu den oben besprochenen vergleichenden Versuchen benutzt wurde, ergaben sich bei Verwen-

---

1) l. c. p. 317.

2) Je 10 g Boden in 100 ccm Giltayscher Lösung in 100 ccm-Kölbchen. Innerhalb 6—8 Tagen war sämtlicher Salpeter verschwunden.

dung von 10 g Erde pro 100 ccm Lösung 6 Wochen nach der Impfung folgende Ernten an Stickstoff in mg:

	Geschälte Parzelle	Nicht geschälte Parzelle
Vor dem Schälen (25. VIII.)	7,16 Proz.	7,36 Proz.
$2^1/_3$ Monate später (6. XI.)	8,52 „	6,87 „
$4^2/_3$ „ „ (15. I.)	6,74 „	6,21 „

In diesem Falle macht sich zwar ein geringer Unterschied zu Ungunsten der nicht gestürzten Parzelle bemerklich, indessen sind die Differenzen zu unbedeutend, um sichere Schlußfolgerungen zu gestatten.

Verwendete ich aber statt der künstlichen Nährlösungen Bodenextrakt [1]), der durch entsprechende Zusätze für die in Frage kommende Umsetzung geeignet gemacht wurde, so waren die Ergebnisse wesentlich andere.

In Bodenextrakt + 0,2 Proz. Salpeter + 1 Proz. Traubenzucker betrugen die Stickstoffverluste infolge Denitrifikation:

	Geschälte Parzelle	Nicht geschälte Parzelle
vor dem Schälen (25. VIII.)	79,90 Proz.	81,08 Proz.
$2^1/_3$ Monate später (6. XI.)	68,35 „	84,32 „
$4^2/_3$ „ „ (15. I.)	43,46 „	53,00 „

Sowohl die durch die Jahreszeit wie auch die durch die verschiedene Bodenbearbeitung bedingten Unterschiede treten deutlich hervor. Daß auf der geschälten Parzelle infolge der erhöhten Luftzirkulation im Boden die Denitrifikanten in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt werden, steht in vollem Einklang mit den von den verschiedenen Autoren gemachten Erfahrungen, daß der Sauerstoff mehr oder weniger hemmend auf die Tätigkeit der denitrifizierenden Bakterien einwirkt [2]).

In Bodenextrakt + 1 Proz. Mannit wurden pro 100 ccm Lösung innerhalb 6 Wochen an Stickstoff in mg assimiliert:

	Geschälte Parzelle	Nicht geschälte Parzelle
Vor dem Schälen (25. VIII.)	11,28 Proz.	11,49 Proz.
$2^1/_3$ Monate später (6. XI.)	10,82 „	7,21 „
$4^2/_3$ „ „ (15. I.)	11,11 „	7,00 „

Der in der 1-proz. wässerigen Mannitlösung, wie oben gezeigt, nur geringe Unterschied zu Ungunsten der nicht geschälten Parzelle tritt hier deutlich hervor. In den mit Erde von der geschälten Parzelle geimpften Versuchsgefäßen war regelmäßig eine kräftige,

1) Den Bodenextrakt stelle ich in der Weise her, daß ich jedesmal 1 kg Erde, die dem zur Untersuchung herangezogenen Felde entstammt, mit 2 l Leitungswasser 2 Stunden lang koche. Die Flüssigkeit, die danach auf etwa 800 ccm eingedampft ist, wird abgegossen, mit Talk geklärt, filtriert, und das Filtrat noch soweit eingedampft, daß es 0,4 ‰ anorganische Bestandteile enthält. Je 1 kg der verwandten Erde ergibt ca. 600 ccm Extrakt mit 0,4 ‰ anorganischen und 0,6 ‰ organischen Bestandteilen. Da die gewonnene Lösung fast völlig frei von Phosphorsäure und deshalb für das Wachstum der Bakterien nur unvollkommen geeignet ist, so füge ich stets (falls nicht die Substanz, deren Zersetzung verfolgt werden soll, an sich phosphorsäurereich ist, wie z. B. Knochenmehl) 0,5 ‰ K_2HPO_4 hinzu. Diese Stammlösung wird dann für die verschiedenen Umsetzungen durch Hinzufügung entsprechender Substanzen geeignet gemacht.

2) Cf. Lemmermann, Krit. Studien üb. Denitrif.-Vorgänge. 1900. p. 32.

späterhin schwarz werdende Haut von Azotobakter wahrzunehmen, die in dem anderen Falle stets fehlte, während dagegen hier immer eine lebhafte Buttersäuregärung eintrat, die wiederum im ersteren Falle konstant vermißt wurde. Diese offenbar für das Studium der Wirksamkeit der Bodenbakterien sehr beachtenswerten Unterschiede waren in der wässerigen Mannitlösung in keinem Falle zu beobachten.

Daß die stickstofffixierenden Bodenbakterien, wie aus obigen Zahlen hervorgeht, durch die niedrige Temperatur während des Winters wenig oder gar nicht in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt werden, steht mit verschiedenen von anderer Seite gemachten Beobachtungen in Uebereinstimmung[1]). Die Stickstoffassimilation scheint in dieser Richtung in einem bemerkenswerten Gegensatz zu den andern sich im Boden vollziehenden Umsetzungen des Stickstoffs zu stehen. Von der geringeren Intensität der denitrifizierenden Bakterientätigkeit während des Winters wurde bereits gesprochen; daß es sich mit der Nitrifikation ganz ähnlich verhält, geht aus den weiter unten mitgeteilten Zahlen hervor. Auch hinsichtlich der Ammoniakbildung konnte ich ein ähnliches Verhalten wahrnehmen; so betrug z. B. nach jedesmal 3-wöchiger Versuchsdauer der prozentische Anteil an durch Magnesia usta abspaltbarem Stickstoff in einem 5,22 Proz. N enthaltenden Knochenmehl

im	September	30,96	Proz.
„	Januar	22,93	„

Es mag schließlich noch darauf hingewiesen sein, daß bei der Verwendung von Bodenextrakt nicht nur die in den anderen Nährlösungen ausbleibenden feineren Unterschiede deutlich hervortreten, sondern daß die Umsetzungen überhaupt viel vollkommener verlaufen. Dies ergibt sowohl ein Vergleich der für die Denitrifikation mitgeteilten Zahlen (abgesehen von den im Januar erhaltenen Resultaten), als auch besonders ein Blick auf die assimilierten N-Mengen. So hohe Stickstoffgewinne wie in den angeführten Versuchen mit Bodenextrakt wurden, soviel mir bekannt, bisher noch nicht beobachtet. Es wurden pro 1000 mg Glukose bezw. Mannit gebunden:

nach Winogradsky[2]) (Clostridium pasteurianum, rein)	2—3	mg N
„ Freudenreich[3]) (Azotobakter, Roh- und Reinkulturen)	4—8	„ „
„ Beijerinck[4]) (Azotobakter, Rohkultur) in maximo	6,93	„ „
in den angef. Versuchen m. wässeriger Mannitlösung in maximo	8,52	„ „
nach Gerlach und Vogel[5]) (Azotobakter, Rohkultur) im Mittel	8,9	„ „
in den angef. Versuchen mit Bodenextrakt in maximo	11,49	„ „[6])

1) Krüger und Schneidewind sowie Gerlach und Vogel haben konstatiert, daß an sich N-arme Erde, die über Winter locker in einem Schuppen gelagert hatte, sich im Frühjahr so reich an wirksamen Stickstoffverbindungen erwies, daß eine Salpeterdüngung fast gar keine Ertragssteigerung bewirkte. Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. Ab. II. Bd. IX. 1902. p. 891.

2) Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 52.

3) Freudenreich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 520, 521.

4) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 23.

5) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902 p. 819.

6) Analoge Versuche, im Monat Mai ausgeführt, ergaben sogar innerhalb 3 Wochen reichlich 14 mg Stickstoffgewinn.

Da der Bodenextrakt organische Stoffe enthält, so war noch zu prüfen, welches Verhalten er bei der Salpeterbildung gegenüber der Omelianskischen Lösung, die von derartigen Substanzen frei ist, zeigen würde. Es wurden als Salpeterstickstoff in Prozenten des ursprünglich vorhandenen Ammoniakstickstoffs nach Verlauf von 4 Wochen im Mittel gefunden bei Verwendung von

	Omelianski-Lösung (1 ‰ $(NH_4)_2SO_4$)	Bodenextrakt + 1 ‰ $(NH_4)_2SO_4$
September	81,60	82,09
November	79,62	77,20
Januar	57,32	64,00

Also auch in diesem Falle hat sich der Bodenextrakt bewährt.

Da ich, wie bereits erwähnt, später meine Untersuchungen über die Stickstoffumsetzungen im Boden ausführlich zu veröffentlichen gedenke, so mögen die angeführten, jener Arbeit entnommenen Zahlen genügen. Jedenfalls geht aus ihnen hervor, daß die Verwendung des Bodenextrakts bei Bodenuntersuchungen volle Beachtung verdient. Wenn es sich um die Vergleichung verschiedener Böden handelt, müßte allerdings in jedem Falle der Extrakt des zu untersuchenden Bodens Verwendung finden.

Es wäre sehr zu begrüßen, wenn von verschiedenen Seiten die vorstehend besprochene Methode, je nach dem vorliegenden Zweck variiert, zur systematischen Untersuchung verschiedener Böden bezw. des Einflusses verschiedener Bearbeitung und Benutzung eines Bodens mit herangezogen werden würde. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, müßte natürlich außer auf Verwendung gleicher Impfmengen noch auf einige andere Punkte geachtet werden (z. B. quantitative, nicht bloß qualitative Verfolgung der Umsetzungen, möglichst übereinstimmende Verwendung zweckentsprechender Lösungen und Gefäße, bei Präparaten, die je nach der Fabrikationsmethode sehr variieren, Benutzung möglichst desselben Präparats[1]), möglichst genaue Identifizierung bezw. Beschreibung der in dem betreffenden Boden am häufigsten bei einer bestimmten Umsetzung auftretenden Bakterienarten). Ich stimme Hiltner, abgesehen von der Angabe betreffs der zweckmäßigsten Impfmenge, völlig bei, wenn er sagt[2]), daß eine derartige Durchforschung verschiedener Böden in Bezug auf Organismen mit spezifischen Fähigkeiten sehr wünschenswert, und daß es nicht zweifelhaft ist, „daß sich gerade nach dieser Richtung die biologische Bodenforschung als sehr fruchtbringend erweisen wird".

„Während der Drucklegung der vorliegenden Abhandlung erschien als Fortsetzung der Remyschen Untersuchungen eine umfangreiche Arbeit von Ehrenberg, „Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit" (Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. p. 1--139), die leider nicht mehr berücksichtigt werden konnte".

Leipzig, 15. März 1904.

1) Meine oben mitgeteilten, mit Pepton Merck erhaltenen Resultate sind z. B. nicht mit denen Remys, der Pepton Scherong benutzte, vergleichbar.

2) l. c. p. 504.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Agarbereitung.

Von **Kundrát Rosam,**
Vorstand der Versuchsstation in Pilsen.

Bei Bereitung des Agars ist die mühsame Filtration und das schnelle Erstarren störend. Folgendes Verfahren habe ich mit sehr gutem Erfolge geübt: der zerkleinerte Agar wird in verdünnter Essigsäure (etwa 10 Proz.) ungefähr 5 Minuten lang eingeweicht, sodann auf ein Sieb gelegt und mit strömendem Wasser die Essigsäure ausgewaschen. Man darf nur schwache Essigsäure benutzen. Mit Essigsäure bereiteter Agar filtriert schnell, hat einen niedrigeren Schmelzpunkt und wird erst bei 35° C fest.

Der so präparierte Agar kann in Vorrat gemacht, dann getrocknet und so auf längere Zeit aufbewahrt werden.

Zum Filtrieren eignet sich am besten das Filtrierpapier No. 604 der Firma Schleicher und Schüll.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen, p. 411.

Burri, R., Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei. (Schluß), p. 371.

Catterina, G., Beitrag zum Studium der thermophilen Bakterien, p. 353.

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. (Suite), p. 426.

Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Schluß), p. 355.

Laubert, R., Zur Morphologie einer neuen Cytospora, p. 407.

Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Schluß), p. 448.

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. (Forts.), p. 337.

Rogers, L. M., Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen, p. 388.

Rosam, Kundrát, Beitrag zur Agarbereitung, p. 464.

Swellengrebel, N., Ueber pasteurisierte Milch, p. 440.

Segin, Adalbert, Zur Einwirkung von Bakterien auf Zuckerarten, p. 397.

Warschawsky, J., Die Atmung und Gärung der verschiedenen Arten abgetöteter Hefe, p. 400.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XII. Band. Jena, den 6. August 1904. **No. 17/18.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Referate.

Kienitz-Gerloff, Bakterien und Hefen, insbesondere in ihren Beziehungen zur Haus- und Landwirtschaft, zu den Gewerben, sowie zur Gesundheitspflege. Berlin (O. Salle) 1904.

Wie der Titel besagt, versucht Verf. die Bedeutung der niederen Organismen, insbesondere der Bakterien und Hefen, für das menschliche Leben darzustellen. Die gemeinverständliche, kurze, aber klare Art der Behandlung des Stoffes, die gut ausgewählten Abbildungen und die Bedeutung des Inhaltes für jeden einzelnen dürften dem Büchlein eine gute Aufnahme in gebildeten Laienkreisen sichern. Bei der Wichtigkeit der Bakterien und der wenigen, oft recht falschen Ansichten, die über ihre Lebenstätigkeit und ihrer Beziehung zur übrigen Natur in Laienkreisen immer

noch herrschen, ist seine weitere Verbreitung zu wünschen. Nachdem der Verf. in einem einleitenden Kapitel die Entstehung der Lebewelt besprochen hat, gruppiert er die Organismen nach der Art ihrer Beziehungen zum menschlichen Leben, dabei das über die Entwickelung der einzelnen Organismengruppen Wichtige einflechtend. So behandelt er die Nahrungsmittelkonservierung, die Alkoholgärung, die Essigsäure, Milchbuttersäuregärung, Bakterienwirkungen bei der Cellulosevergärung, Fäulnis etc., die Beziehungen der Bakterien zum Stickstoff etc. Besonders eingehend bespricht er die Infektionskrankheiten, hierbei manche Aufklärung und manchen praktischen Wink gebend. Schander (Geisenheim a. Rh.).

Papenhausen, H., Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung bei den Bakterien. (Arbeiten aus dem bakteriol. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. III. Heft 1.)

Verf. studierte an 22 verschiedenen Bakterienkulturen die Bedingungen der Farbstoffproduktion. Es wurde der Einfluß der Nährbodenbeschaffenheit, der Temperatur, des Vorhandenseins oder Fehlens von Sauerstoff näher untersucht. Die hauptsächlichsten Ergebnisse der Arbeit sind folgende:

1) Die optimalen Bedingungen der Farbstoffbildung sind für die Pigmentbakterien außerordentlich verschieden.

2) Für die meisten Bakterien sind Kohlehydrate, insbesondere Stärke, zu intensiver Farbstoffbildung notwendig.

3) Saure Reaktion des Nährbodens befördert in einigen Fällen die Farbstoffbildung und scheint nur in den Fällen direkt ungünstig zu wirken, in welchen das Wachstum selbst beeinträchtigt wird.

4) Im allgemeinen wirken niedrige Temperaturen, die wenig über der unteren Wachstumsgrenze liegen, günstig auf die Farbstoffproduktion ein. Bei wenigen Arten kommt es umgekehrt nur bei höheren Temperaturen zur Farbstoffbildung.

5) Sauerstoff ist im allgemeinen zur Farbstoftbildung ebenso wie zum Wachstum der Pigmentbakterien notwendig; doch gibt es einige Arten, die auch bei Sauerstoffabschluß wachsen und Farbstoff bilden. Außer den bisher bekannten Streptococcus sanguineus, Bac. rubellus und Spirill. rubrum sind noch Bac. egregius, Bact. fuscum Flügge I und Bac. cyanofuscus hierher zu rechnen.

6) Bei Spirill. rubrum ist Sauerstoffabwesenheit nicht die alleinige Ursache der Farbstoffbildung, vielmehr scheint ein auf die Kolonieen ausgeübter Druck, der unter Umständen auch unter anderen Verhältnissen noch nachwirken kann, zur Farbstoffbildung notwendig zu sein.

7) Farblos gewordene Stämme lassen sich unter geeigneten Bedingungen wieder zur Farbstoffproduktion bringen.

8) Durch sehr lange fortgesetzte Kultur unter günstigen Bedingungen wird das Vermögen der Farbstoffbildung allmählich wieder konstanter. Carl (Karlsruhe).

Lewandowsky, Felix, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLIX. 1904. p. 47 ff.)

Die Verwendung konzentrierter Kochsalzlösungen zur Konservierung von Nahrungsmitteln gab schon lange der Frage hygienische Bedeutung, in welcher Weise Bakterien in ihrer Lebensfähigkeit und in ihrer Entwickelung durch hohen Salzgehalt ihres Nährmediums beeinflußt werden. Nach Besprechung der Arbeiten von Forster und de Freytag, Stadler und Petterson, welche die Frage hauptsächlich vom hygienischen Standpunkt aus betrachteten sowie nach Erwähnung der Matzuschitaschen Arbeiten über die Einwirkung des Kochsalzgehaltes der Nährböden auf die Wuchsformen der Mikroorganismen, wendet sich Verf. den Ergebnissen seiner eigenen Untersuchungen zu, die in erster Linie nach bakteriologisch-biologischen Gesichtspunkten hinzielend angestellt wurden.

Kölbchen mit je 100 ccm Löfflerscher Bouillon wurden mit je 10, 25 und 35 g Kochsalz versetzt und sterilisiert. Je 1 Kölbchen der 10-proz., der 25-proz. und der 35-proz. (gesättigten) Nährlösung wurde dann 1mal mit Gartenerde, ein zweites Mal mit fein zerschnittenem Kraut und ein drittes Mal mit Kuhkot (jedesmal ca. eine Messerspitze) versetzt und im Brutschrank bei 30° aufbewahrt. Als nach 4 Tagen mit einer 2 mg-Oese Gelatineplatten gegossen wurden, blieben die Platten von den 25- und 35-proz. Anreicherungen steril. Die Platten von der 10-proz. Anreicherung zeigten verschiedene Kokken, ein Gelatine nicht verflüssigendes Stäbchen und Mesentericus-Kolonieen. Neben diesen Arten entwickelten sich auf der mit Kuhkot-Anreicherung gegossenen Platte 1mal einige Kolonieen von Coli-Arten, während aus der Krautanreicherung vorzugsweise Kokken aufgingen. 6 Tage nach der Aussaat wurde von der 25-proz. und von der gesättigten Kochsalzbouillon nochmals Platten mit je 3 Spiralen à 53,3 mg gegossen. Aus der 25-proz. Kochsalzbouillon entwickelten sich in allen drei Aussaaten Kolonieen von Kokken, auf den Platten aus Kraut- und Erdeanreicherung außerdem Kulturen eines Stäbchens; daneben auf allen Platten vereinzelte Mesentericus-Kolonieen. Die Platten von der gesättigten Kochsalzbouillon wiesen nur Entwickelung vereinzelter Kokken- und Mesentericus-Kolonieen auf. Nach Verlauf noch längerer Zeit, z. B. nach Ablauf von 8 Monaten, zeigten Platten von der 25-proz. Anreicherung, mit der 2 mg-Oese gegossen, unzählige Kolonieen der oben erwähnten Kokken und des Stäbchens, während auf Platten der 30-proz. Kochsalzbouillon nur vereinzelte Mesentericus-Kolonieen aufgingen. Eine Vermehrung des Bac. mesentericus tritt allerdings schon bei 25-proz. Kochsalzbouillon nicht mehr ein, indessen halten sich die Sporen dieses Bakteriums sogar in gesättigter Kochsalzlösung lange Zeit lebensfähig.

Von der eingehenden Beschreibung des vom Verf. isolierten Coccus und Bacillus sei folgendes angegeben:

Micrococcus: Durchmesser 0,8—1 μ, unregelmäßige Häuf-

chen. Färbbar mit allen Anilinfarben. Gram positiv. Temperaturoptimum 30—37°. Bei 24° noch gutes Wachstum. Gelatine wird langsam verflüssigt. Auf Gelatineplatte runde, gelbe Kolonieen, nach einigen Tagen von flacher Verflüssigungszone umgeben. Bouillon nach 24 Stunden getrübt, später Klärung und Bildung eines dicken Bodensatzes. Auf Agarplatte weiße, runde, dicke Kolonieen von mattem Glanz. Tiefliegende Kolonieen punktförmig. Auf Löfflers Blutserum gelblicher Belag. Auf Kartoffel dicker, trocken aussehender, weißlicher Belag. In Milch keine Veränderung, keine Säurebildung. Sehr geringe Indolbildung. Abtötung durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 60°. Nicht pathogen.

Bacillus: Cylindrisch, mit abgerundeten Enden. Länge 2—4 μ, Breite $^1/_2$ μ. Häufig Fadenbildung. Auf alten Agarkulturen zahlreiche Involutionsformen. Färbbar mit allen Anilinfarben. Gram positiv. Temperaturoptimum 30—37°, aber noch gutes Wachstum bei Zimmertemperatur. Gelatine wird nicht verflüssigt. Bei Sauerstoffabschluß kein Wachstum. Auf Gelatineplatte runde, hellgraue, durchsichtige Kolonie. Gelatinstich: zarte, hellgraue Leiste. Bouillon: nach 24 Stunden mäßig getrübt, später Bodensatzbildung, aber keine Aufhellung. Agarplatte feuchtglänzende, hellgraue Kolonie. Auf Löfflers Blutserum zarter, farbloser Belag. Auf Kartoffel dünner, unsichtbarer Belag. Keine Säure-, keine Indolbildung, keine Gärung. Abtötung erst durch 15 Minuten langes Erhitzen im strömenden Dampf. Nicht pathogen. Beweglich.

Was das Verhalten dieser Mikroorganismen in der hochprozentigen Kochsalzbouillon betrifft, so ließen sich morphologische Veränderungen nicht nachweisen. Bei dem Bacillus wurde Verlust der Beweglichkeit und Zunahme der Fadenbilduug beobachtet. Vor allem machte sich indessen eine starke Entwickelungshemmung bemerkbar, wobei die Zahl der übergeimpften Keime von Bedeutung war. Beim Ueberimpfen von nur geringen Mengen konnte das Wachstum ganz ausbleiben; bei Einsaat großer Mengen fand anfangs Verminderung der Bakterienzahl statt, auf die langsame Zunahme folgte. Versuche durch fortgesetzte Züchtung auf hochprozentigen Kochsalznährböden, die Mikroorganismen an höhere Konzentrationen zu gewöhnen, hatten keinen Erfolg. Es zeigte sich, daß die Bakterien gegen große Konzentrationsschwankungen sich nicht als empfindlich erwiesen, aber ein Wachstum in Lösungen mit über 25-proz. Kochsalzgehalt konnte nicht erzielt werden. Um zu entscheiden, ob die Ursache der entwickelungshemmenden Wirkung der konzentrierten Kochsalzlösungen eine spezifisch chemische oder eine physikalische sei, wurden Kontrollversuche mit 20- und 25-proz. Kaliumchloridbouillon angestellt. In dieser letzteren war nun eine weit geringere wachstumshemmende Wirkung zu beobachten als bei 25-proz. Kochsalzbouillon, so daß anzunehmen war, daß es sich bei der Kochsalzwirkung vorwiegend um eine molekulare Wirkung handelt. In der Tat verhielten sich Bouillonnährböden, die äquimolekulare Mengen NaCl und KCl enthielten, in Bezug auf die Entwickelungshemmung annähernd gleich. Versuche mit äquimolekularen Mengen Natrium- und Kaliumnitrat

zeigten aber, daß die Entwickelungshemmung bei den Natriumsalzen größer ist als bei den Kaliumsalzen.

Von den Ergebnissen der angestellten Versuche erscheint vor allem biologisch interessant, daß bei so hohem Salzgehalt des Nährmediums und des Zellleibes selbst noch reichliche Vermehrung der Mikroorganismen eintritt. Daß die Bakterienzelle das Salz in derselben Konzentration enthält, wie das sie umgebende Nährmedium, ist zwar experimentell nicht festgestellt worden, muß aber angenommen werden, da bei einem so großen osmotischen Druck, wie er bei Impermeabilität des Protoplasmakörpers bestehen müßte, eine Entwickelung noch weniger verständlich wäre, um so mehr, als die zu der von A. Fischer aufgestellten Gruppe der impermeablen Bakterien gehörenden Organismen erfahrungsgemäß schon bei einer NaCl-Konzentration von 5 Proz. nur kümmerlich oder gar nicht fortkommen. Ferner muß hervorgehoben werden, daß neben der in erster Linie entwickelungshemmend wirkenden molekularen Konzentration noch eine spezifische Ionenwirkung der Salze sich geltend macht, so zwar, daß bei gleicher molekularer Konzentration die Natriumsalze stärker entwickelungshemmenden Einfluß ausüben als die Kaliumsalze.

In hygienischer Beziehung ist es von Bedeutung, daß sowohl der Coccus als auch der Bacillus des Verf., was Bildung von Stoffwechselprodukten anbelangt, sehr wenig aktiv ist. Als Fäulniserreger können diese Mikroorganismen also nicht in Betracht kommen. Koeppen (Hannover).

Raýman, Bohuslav et **Kruis, Karel**, Études chimiques et biologiques. Partie III. (Bulletin international de l'Académie des Sciences de Bohême. 1903.)

Dieses Heft enthält 2 Abhandlungen, nämlich: 1) Der Zellkern der Bakterien und 2) Ueber den Ursprung des Amylalkohols in gegorenen Flüssigkeiten.

Zu der ersten Abhandlung gehören 5 Tafeln, auf welchen in Heliogravure Bakterienpräparate in einer Vergrößerung von 3000-mal reproduziert sind.

Die Verff. wandten Alizarin PS von der Firma Bayer & Co. in Elberfeld zur Färbung des Zellkerns bei Hefe an, und da das Resultat sich hier als ein besonders befriedigendes zeigte, wurde derselbe Farbstoff auch bei Bakterien benutzt, hier jedoch in Verbindung mit Hämatoxylin, weil die Farbe sonst eine zu schwache wurde. Die Präparate wurden dann photographiert, und die Verff. haben dadurch die Existenz des Zellkernes bei den Bakterien dargetan.

Das folgende Verfahren wurde bei der Herstellung der Präparate benutzt. Eine junge Kultur der betreffenden Bakterie wurde in Wasser ausgerührt und eine Kleinigkeit hiervon wurde in einer dünnen Schicht auf ein im voraus vollständig abgefettetes Deckgläschen angebracht. Die Fixierung geschah durch Eintrocknen bei Zimmertemperatur. Das Deckgläschen mit den auf diese Weise fixierten Bakterien wurde dann zuerst in eine Lösung von Eisen-Ammoniak-Alaun (2,5 g in 100 g Wasser) angebracht und ver-

blieben hier 3—7 Stunden; darnach wurde mit Wasser abgespült und die Präparate wurden in eine Mischung von gleichen Teilen einer Lösung von Hämatoxylin (5 g in 1 l Wasser) und einer Lösung von dem purpurinsulfonsauren Salze oder dem hexaoxyanthrachinondisulfonsauren Salze des obengenannten Alizarins (2,5 g in 1 l Wasser) eingetragen. Die Präparate verweilten hier 24 Stunden oder mehr. Dann wurden sie mit Wasser abgespült und wieder in die obengenannte Lösung von Eisen-Ammoniak-Alaun angebracht, bis das Cytoplasma vollständig entfärbt war.

Daß es wirklich die Zellkerne sind, die man in den Abbildungen sieht, schließen die Verff. u. a. daraus, daß sie regelmäßig in den langen Zellen gefunden werden, und daß sie in der Teilung der Zellen teilnehmen, was aus mehreren der Figuren deutlich ersichtlich ist.

Uebrigens weist Ref. auf die interessante Abhandlung selbst und besonders auf die Photographieen hin. So gute Abbildungen, wie in dieser Richtung hier, sind kaum früher dargestellt worden. Man sieht, daß sie von einem Meister auf diesem Gebiete herrühren, besonders wenn man, wie Ref., Gelegenheit gehabt hat, die Originalphotographieen selbst zu sehen. Mit Erwartung sieht man den Untersuchungen der Verff. über den Bau der Hefezellen entgegen; sie werden in einer späteren Mitteilung erscheinen.

Die zweite Abhandlung bespricht, wie genannt, die Bildung des Amylalkohols in vergorenen Flüssigkeiten. In einer früheren Arbeit haben die Verff. dargetan, daß dieser Alkohol von Kulturhefen unter gewissen Bedingungen, welche damals nicht ausfindig gemacht wurden, gebildet wird.

Sie haben jetzt neue Versuche angestellt, um diese Bedingungen zu ermitteln und infolgedessen eine große Reihe Gärungen in zuckerhaltigen Lösungen mit verschiedenen Nährstoffen unternommen, nach Aussaat teils von jungen, sehr kräftigen Zellen, teils von mehrjährigen, alten Zellen. Das Resultat dieser Versuche wurde, daß weder eine ungünstige Nährflüssigkeit, noch das Alter der Zellen, noch deren physiologischer Zustand Einfluß auf die Bildung des Amylalkohols hat. Im Gegenteil zeigte es sich, daß dieser Alkohol durch Einwirkung von Kulturhefe, aber nur auf gewisse Kohlehydrate, gebildet wird, und daß es die Beschaffenheit des Nährsubstrates ist, welche die größte Rolle spielt, und von welcher die Bildung des Amylalkohols abhängig ist.

Auch die von Tollens angestellten Versuche mit Vergärung von Brauereitrebern, die mit Schwefelsäure invertiert waren, haben die Verff. wiederholt und sie haben gefunden, daß außer Aethylalkohol auch Amylalkohol gebildet wird.

In betreff der einzelnen Versuche, die mit großer Genauigkeit ausgeführt sind und in allen Einzelheiten beschrieben, verweist Ref. auf das Original, welches mit großem Interesse gelesen wird.

Klöcker (Kopenhagen).

v. Baur-Breitenfeld, K., Enzyme und Fermente. (Allgemeine Brauer- und Hopfen-Zeitung. 1904. No. 42.)

Der ganze Prozeß der Bierfabrikation — Ueberführung der

Gerste in Malz, Darstellung der Würze und Vergärung der Würze — findet unter der Einwirkung von Enzymen und Fermenten statt; diese Vorgänge sind besonders durch die epochemachenden Untersuchungen Buchers aufgeklärt worden. Die Enzyme und Fermente werden von den meisten Forschern für wirkliche chemische Stoffe, von manchen französischen Forschern dagegen als immaterielle Energie-Zentren angesehen, die an ein für ihre Wirkung gleichgültiges Substrat gebunden sind und sogar Fernwirkungen auszulösen imstande sein sollen. Ihre Zusammensetzung ist der der Eiweißkörper sehr ähnlich. Die Reindarstellung der Enzyme ist bisher nicht gelungen, da stets auch infolge ihrer nahen Verwandtschaft nicht davon trennbare Eiweißstoffe mit ausfallen. Als Bestandteile des Protoplasmas sind sie einer chemischen Untersuchung nicht zugänglich und stellen Lebewesen bestimmter Form dar, die nur im Zustande des Lebens Umsetzungen hervorrufen können. Verf. weist sodann auf die Tätigkeit der Hefe, die Wirkung der Enzyme beim Keimprozesse der Pflanzen und die Produktion der Enzyme im menschlichen Organismus (Pepsin, Trypsin, Pankreatin) hin. Ohne die Arbeit und Fähigkeit der Bakterien ist kein Leben und Bestehen des menschlichen Körpers möglich. Dagegen gibt es auch Bakterien, welche Veranlassung zu Krankheiten geben (pathogene Bakterien). Alle Enzyme zeigen in Lösung bei Temperaturen von 35—50° C ein Optimum ihrer Wirkung. Ihre Tätigkeit scheint bei tieferen Temperaturen um 0° und darunter ganz gering zu sein, während bei höheren Temperaturen eine immer schnellere Zerstörung dieser Lebewesen auftritt. In trockenem Zustande kann man dagegen die Enzyme stark, manche sogar auf 100° C erhitzen, ohne daß ihre Kraft dabei leidet. Ferner sind die Enzyme gegen Mineralsäuren und Alkalien von starker Konzentration sehr empfindlich. Verdünnte Säuren und Alkalien regen die Enzyme zu energischer Tätigkeit an. Die Enzyme bewirken hydrolytische Spaltungen und Gärungen. Letztere sind von Liebig und Pasteur eingehend studiert worden.

Kausch (Charlottenburg).

Harold, Johnson, The enzymes. (The Brewer and Maltster. Vol. XXII. No. 10 and 12.)

Verf. gibt einen Ueberblick über die für den Brauer wichtigsten Enzyme (Cystase, Amylase, Peptase und Oxydase) und ihre Wirkungen beim Brauprozeß. So besitzt die Cytase die Fähigkeit, die Cellulose zu lösen und in lösliche Stoffe (Gummi, Zucker etc.) umzuwandeln. Ihre Wirkung ist besonders erheblich (aber langsam) bei der Keimung, wobei sie die Cellulose der Stärkekörnerhüllen angreift und damit der Amylase vorarbeitet. Ferner trägt sie zur Auflösung des Kornes bei. Die Amylase ist ein sehr kräftig wirkendes Enzym und nach Ansicht verschiedener Forscher aus zwei verschiedenen Enzymen, einem Stärke verflüssigenden und einem Stärke verzuckernden zusammengesetzt. Die Peptase führt die Eiweißstoffe in Albumosen, Peptone und Amide über. Die Oxydase endlich entnimmt der Luft Sauerstoff und überträgt ihn auf die Substanz (Fett, Zucker, Stickstoffverbindungen), welche an-

gegriffen werden soll. In gewissen Fällen (z. B. bei der Keimung) führt die Oxydase die völlige Vernichtung der Substanzen unter Kohlensäureentwickelung herbei. Kausch (Charlottenburg).

Schidrowitz, Philip, Some experiments on the proteolytic enzyme of malt. (The Brewer and Maltster. Vol. XXII. No. 10 and 11.)

Verf. gibt einen Ueberblick über eine Reihe von Versuchen, aus denen hervorgeht, daß die Gegenwart von löslichem, leicht assimilierbarem Nährstoff die Bildung eines gelatine-verflüssigenden proteolytischen Enzyms wesentlich verzögert und eventuell sogar ganz verhindert. Salpetersaures Ammonium übt in dieser Beziehung eine erheblich stärkere Wirkung als das Asparagin aus. Es ist daher wahrscheinlich, daß die Ausscheidung des proteolytischen Enzyms, ebenso wie die Bildung der Diastase durch Mangel an Nahrung bedingt wird. Dies wird dadurch bestätigt, daß die Nichtbildung des Enzyms augenscheinlich nicht auf die besonders verzögernde Wirkung des bei den Versuchen verwendeten Salzes zurückzuführen ist. Die der Weiche zugeführten Salze scheinen eine weit höhere Wirkung zu haben, als die in den Keimapparaten verwendeten Lösungen. Rohrzucker übt einen nachträglichen Einfluß auf die Ausscheidung des Enzyms aus. Künstliche Kulturversuche haben die Annahme, daß die Ausscheidung des proteolytischen Enzyms durch Mangel an Nahrung verursacht wird, bestätigt. Ferner wurde diese Ansicht dadurch bewiesen, als man die Gerste unter mehr normalen Bedingungen kultivierte. Es wurden z. B. eine Anzahl Gerstenkörner (die 48 Stunden lang aufgeweicht waren) in Töpfen in leichte Gartenerde, andere in chemisch reinen Sand gesät. Jeden zweiten Tag wurden die Pflanzen mit der gleichen Menge Wasser begossen und nach dem 17. Tage den Töpfen je 6 Pflanzen entnommen. Die in leichter Gartenerde gewachsenen Pflanzen waren 130 mm, die in dem chemisch reinem Sande gewachsenen nur 110 mm lang. In einem Mörser wurden die Pflanzen mit Sand zu einer gleichmäßigen Masse verrieben und sodann mit 20 ccm Thymol-Gelatine versetzt. Es wurde dann nach 18-stündiger Einwirkung die Gelatine, mit welcher die aus den in Erde gezüchteten Pflanzen gewonnenen Masse versetzt war, bei — 3° C fest, während die mit der aus den anderen Pflanzen gewonnenen Masse versetzte Gelatine sich nur wenig verdichte.

Nach 42 Stunden blieb die Gelatine von beiden Versuchen flüssig beim Abkühlen. Hieraus folgt, daß die in einem von Stickstoffkörpern freien Medium gezüchteten Pflanzen einen erheblich höheren Gehalt an proteolytischem Enzym zeigten, als die in Gartenerde gezüchteten Pflanzen. Kausch (Charlottenburg).

Cannon, M. J., Invertase. (Country Brewers Gazette. 1903. No. 641 and 642.)

Verf. gibt unter Berücksichtigung der Arbeiten Fischers, Hansens, O'Sullivans, Browns, Morris, Kjeldahls, Pasteurs, Berthelots nnd Thompsons einen Ueber-

blick über die Eigenschaften und Wirkungen des unter den Bezeichnungen: Glukosinferment, Zythozymase, Zymase, Alternativferment, Invertferment, Sukrase, Invertin und Invertase bekannten hydrolysierenden Enzyms des Rohrzuckers. Die durch die Wirkung der Invertase auf Saccharose erfolgende Hydrolyse findet nach folgender Gleichung statt: $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Saccharose) $+$ H_2O $=$ $C_6H_{12}O_6$ (Dextrose) $+$ $C_6H_{12}O_6$ (Lävulose). Die Wirkung der Invertase wird durch Konzentration, Temperatur und Beschaffenheit des Mediums beeinflußt und der Umfang der Inversion ist von der Menge der vorhandenen Invertase und der Zeitdauer der Einwirkung abhängig. Die Schnelligkeit der Inversion hängt von der Temperatur sehr ab, d. h. sie ist bei niederen Temperaturen gering und ihr Optimum liegt bei 55—60° C. Letzteres ist wieder abhängig von der Herkunft der Invertase. Bei Gegenwart einer günstigen Säuremenge ist die Wirkung der Invertase hoch, während sie gegen jeden über die normale Menge hinausgehenden Säurezusatz sehr empfindlich ist. Die Gegenwart von Alkohol ist schädlich. Auf Saccharose wirkt die Invertase schnell bezüglich Lauf und Zeit und erheblich in Bezug auf die Menge.

Invertase kann nach dem Verfahren von Berthelot (Extraktion trockner Hefe mit Wasser, Glycerin u. dergl. und Fällen des Enzyms mit Alkohol und der erhaltenen Lösung) und O'Sullivans und Thompson (Selbstgärenlassen gepreßter Hefe, Filtration der dabei erhaltenen Flüssigkeit und Fällen der letzteren mit Alkohol) in trockenem und reinem Zustande isoliert werden.

Sie stellt ein rein weißes, bald gelblich werdendes Pulver dar, das mit Wasser klare rechtsdrehende Lösungen gibt, die in der Hitze nicht koagulieren. In Alkohol vom spez. Gew. 0,440 ist sie völlig unlöslich.

Die Konstitution der Invertase ist wenig bekannt und ihre Zusammensetzung nach Untersuchungen verschiedener Forscher (Donath, Barth, O'Sullivan) folgende:

Kohlenstoff	40,5—46,4	Proz.
Wasserstoff	6,6—8,4	„
Stickstoff	3,6—9,4	„

Die Invertase wird in der Brauerei zur Herstellung des Invertzuckers verwendet. Kausch (Charlottenburg).

Naumann-Wender, Die Hefekatalase. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. 1904. No. 17.)

Loew hatte in wässerigen Tabaksextrakten ein Enzym gefunden, welches Wasserstoffsuperoxyd lebhaft in Wasserstoff und Sauerstoff zersetzt, und gab diesem den Namen „Katalase". Verf. hat nun durch eingehende Versuche festgestellt, daß auch die Hefen (ober- und untergärige) ein das Wasserstoffsuperoxyd kräftig zersetzendes Enzym, die „Hefekatalase", enthalten. Letztere ist nur innerhalb der Zelle wirksam und läßt sich aus der unverletzten Zelle nicht isolieren. Die katalytische Wirkung dieses Enzyms wird durch Abtöten der Hefezelle nicht aufgehoben. Man kann das Enzym im trockenen Zustande bis auf 100° C erhitzen, ohne daß es unwirksam wird, dagegen verliert es im feuchten Zustande,

auf 68—72° C erhitzt, seine Wirksamkeit. Proteolytische Enzyme wirken auf die Hefekatalase nicht ein; die allgemeinen Enzymgifte üben meist einen vernichtenden Einfluß auf ihre Wirksamkeit aus.

Kausch (Charlottenburg).

Davis, B. F., und Ling, A. R., Einwirkung der Malzdiastase auf Kartoffelstärkekleister. (Chem. Ztg. Bd. XXVII. 1903. p. 1257.)

Als Fortsetzung ihrer früheren Versuche zeigen Verff., daß eine Diastaselösung beim Erhitzen über 55° in ihrer Wirkung schwächer wird, und daß die Veränderung, welche in dem Enzymmolekel hervorgerufen wird, eine bleibende ist, denn die Diastase behält die erlangten Eigenschaften bei, wenn man sie aus ihrer Lösung wieder durch Alkohol ausfällt und auf Stärkekleister bei oder unter 55° einwirken läßt. Die veränderte Diastase erzeugt bei ihrer Einwirkung auf Stärkekleister d-Glykose, und die Umsetzung scheint anzufangen, sobald eine Lösung des Enzyms unterhalb 60° C erhitzt wird. In dem Maße, wie die Temperatur steigt. nimmt die Menge der durch das Enzym erzeugten d-Glykose ebenfalls zu, indem die Höchstmenge durch die Einwirkung von Diastase erhalten wird, die vorher in Lösung auf 68—70° während 15 bis 31 Minuten erhitzt worden ist. Oberhalb dieser Temperatur ist die Zerstörung des Enzyms so rasch, daß man eine viel größere Menge anzuwenden hat, um die Stufe der Reaktion zu erreichen, bei welcher d-Glykose auftritt. Dessenungeachtet bildet sich d-Glykose durch Diastase, welche auf 78° erhitzt worden ist, und wahrscheinlich sogar auf höhere Temperaturen. Die Höchstmenge an d-Glykose, die sich in jedem Falle bildet, überschreitet etwa 12 Proz. der gesamten hydrolytischen Produkte nicht.

Utz (Würzburg).

Buchner, Eduard und Meisenheimer, Jakob, Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXXVII. 1904. p. 417—428.)

Ueber den Mechanismus der Zuckerspaltung bei der alkoholischen Gärung fehlten bisher experimentell gestützte Anhaltspunkte. Besonderer Anlaß, neben Glycerin und Bernsteinsäure, welche bei der zellenfreien Gärung höchstens in äußerst geringer Menge auftreten, auf weitere Nebenprodukte beim Zerfall des Zuckers zu fahnden, war dadurch gegeben, daß 13—16 Proz. desselben sich dieser Zersetzung entzogen. Vor allem mußte dabei an das Auftreten von Essigsäure und an die Bildung von Milchsäure gedacht werden, und in der Tat ist es gelungen, sowohl Essigsäure als Milchsäure bei der Zuckergärung durch Preßsaft aus der Bierunterhefe nachzuweisen. Die Bildung dieser Säuren durch das Wachstum lebender Bakterien war ausgeschlossen. Als Hauptergebnis der bisherigen Forschung betrachten Verff. den Nachweis, daß die Milchsäure bei der Spaltung des Zuckers eine große Rolle spielt und wahrscheinlich als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung auftritt.

Der Zerfall des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlendioxyd verläuft nach A. v. Baeyers Hypothese wahrscheinlich in zwei

Phasen. In der ersten tritt eine Verschiebung der Hydroxylgruppen unter Reduktion der einen Kohlenstoffatome und unter Anhäufung von Sauerstoff an den anderen ein. Nachdem „Akkumulation des Sauerstoffes" stattgefunden hat, tritt nach von Baeyer Spaltung der Kohlenstoffkette ein, da, wo der Sauerstoff angehäuft ist. Hierbei soll entweder das äußere Anhydrid der Milchsäure entstehen können, entsprechend einerseits der alkoholischen Gärung, andererseits der Milchsäuregärung. Bei der Formulierung dieser Vorgänge bevorzugt v. Baeyer eine Art von symmetrischer Verschiebung der Hydroxylgruppen, wobei Reduktion der Endglieder der Kohlenstoffkette, Oxydation der mittelständigen Kohlenstoffatome unter Bildung von mehreren Ketongruppen erfolgen soll. Zwischen letzteren tritt dann vermutlich die Spaltung ein. Verff. scheint eine Annahme wahrscheinlicher zu sein, die zuerst Meisenheimer geäußert hat, daß nämlich der Zerfall der Kohlenstoffkette mit der Spaltung der Acetessigsäure Aehnlichkeit haben dürfte. Als Zwischenprodukt würde eine Dioxy-γ-Ketonsäure zu betrachten sein, das intermediäre Auftreten von Milchsäure wird durch die Beobachtungen von Duclaux, welche Verff. bestätigen können, gestützt.

Die merkwürdigen Verschiedenheiten im Verhalten des Preßsaftes, der bald das Verschwinden, bald die Bildung von Milchsäure bewirkt, scheint Verff. am einfachsten durch die Annahme erklärt zu werden, daß es sich um die Wirkung zweier Enzyme handelt, von welchen das eine den Zucker in Milchsäure spaltet, während das andere die Zersetzung in Alkohol und Kohlendioxyd bewirkt. Sind beide Enzyme im Ueberschuß vorhanden oder werden beide stetig von neuem gebildet, so lassen sich nur die Endprodukte der Zuckerspaltung fassen. Dieser Fall liegt bei der Gärung mit lebender Hefe vor, bei welcher übrigens auch noch Zwischenprodukte durch die Ernährungsvorgänge verschwinden können. Ist dagegen die Neubildung der Enzyme ausgeschlossen, wie es für den zellfreien Preßsaft zutrifft, so hängt es nur von dem physiologischen Zustand der angewandten Hefe ab, ob beide Enzyme in genügender Menge vorhanden sind. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der sogenannte physiologische Zustand nichts anderes bedeutet, als den jeweiligen Gehalt an Enzymen, bezw. die Fähigkeit zur Bildung von solchen. H. Will (München).

Braun, R., Reinzucht aus Faßgeläger. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. Heft 7.)

Versuche, aus Faßgeläger eine Reinzüchtung von Bierhefe herzustellen, führten zu einer Reinhefe, die einer damit vergorenen Würze einen unangenehm kratzenden, scharfen und bitteren Geschmack, verbunden mit einem unangenehmen Nachgeschmack, verlieh. Die seitens einer Brauerei mit derartiger Reinhefe angestellten Versuche ergaben zwar, daß das mit einer solchen Hefe erzeugte Bier einen unangenehmen Geschmack nicht zeigt, ließen aber erkennen, daß derartige Hefe sich nur ungenügend vermehrt. Verf. ist daher der Ansicht, daß man von dem Grundsatz, nur

kräftige, unter den günstigsten Vegetationsbedingungen herangewachsene Zellen zur Reinkultur von Bierhefe zu verwenden und geschwächte Zellen aus alten Kulturen (wie solche das Faßgeläger darstellt) nach Möglichkeit wenigstens für die Zwecke der Praxis auszuschließen, nicht abweichen dürfe.

Kausch (Charlottenburg).

Guilliermond, A., Recherches cytologiques sur les Levures. (Revue générale de Botanique. T. XV. 1903.)

Verf. gibt zuerst eine historische Uebersicht der Frage über den Zellkern der Saccharomyceten, beschreibt danach Methoden und Technik und gibt ein Verzeichnis der Arten, mit welchen er seine Untersuchungen angestellt hat. Sie sind die folgenden: Dematium sp., Oidium lactis, 6 Arten von Saccharomyces, 3 Arten von Schizosaccharomyces, 2 Torula-Arten, Sacch. apiculatus, 2 Mycoderma-Arten, Monilia candida, „Torula nigra“ (d. h. ein Cladosporium oder so), Endomyces albicans und 2 Ustilago-Arten.

Er findet bei allen Zellkerne und Vakuole, die Granulae einschließen, welche Aehnlichkeit mit den Chromatinkörnern der Bakterien haben, und wahrscheinlich auch identisch mit diesen sind. Er macht ferner darauf aufmerksam, daß Heidenhains Hämatoxylin auch die Chromatinkörner färben kann und dadurch eine Verwechslung mit den Zellkernen hervorrufen. Man muß deshalb immer seine Resultate durch Färbung mit anderen Reagentien kontrollieren. Die genannten Chromatinkörner lösen sich, wenn die Sporenbildung stattfindet, indem sie von den Sporen absorbiert werden, und sie treten also als Reservenährstoffe auf. Verf. ist der Ansicht, daß ein Geschlechtsakt bei den drei von ihm untersuchten Schizosaccharomyces-Arten (octosporus, Pombe und mellacei) stattfindet und daß dies in Uebereinstimmung ist mit dem, was Barker bei seinem Zygosaccharomyces fand. Die übrigen Saccharomyceten haben nach der Meinung des Verf.s im Laufe der Zeit die Kopulationsfähigkeit verloren und vermehren sich jetzt ausschließlich parthenogenetisch. Er spricht aus, daß die Frage über die Abstammung der Saccharomyceten dadurch beantwortet ist: sie sind selbständige Pilze.

Von den vielen interessanten Einzelheiten, welche sich in dieser Abhandlung finden, werden wir nur einige hervorheben. Bei Schizosacch. octosporus beobachtete Schiönning, daß die Ascusbildung in der Weise vor sich ging, daß eine Zelle sich durch eine Querwand in 2 anderen Zellen teilte. Diese 2 Zellen verschmolzen dann in der Weise, daß die zwischen ihnen anwesende Wand sich wieder löste und in dieser von 2 Schwesterzellen entstandenen Zelle bildeten sich dann die Sporen. Guilliermond hat jetzt gefunden, daß das Verschmelzen der zwei Zellen auch auf diese Weise vor sich gehen kann, daß sie, ebenso wie Zygosaccharomyces, jede eine Ausstülpung aussendet. Diese Ausstülpungen begegnen einander, ihre Scheidewand löst sich und die Zellen verschmelzen. Auch zwei nicht durch Teilung einer einzelnen gebildete Zellen können zusammenschmelzen und ein Ascus

werden. Und endlich kann auch, was aber doch nur ausnahmsweise geschieht, eine Zelle direkt ein Ascus werden ohne irgend ein Verschmelzen, ebenso wie bei Saccharomyces. Während dieser Prozesse teilen sich und verschmelzen die Zellkerne gleichzeitig mit den Zellen und infolgedessen nimmt Verf. an, daß ein Geschlechtsakt stattfinde.

Die Abhandlung ist von 9 Tafeln begleitet. Auf Tafel I wird das Mycel der genannten Dematium-Art nebst Sproßzellen dargestellt; es finden sich in jeder Zelle viele Zellkerne. Die Tafel II zeigt uns Oidium lactis, ebenfalls mit vielen Zellkernen, und Sacch. cerevisiae I, in dessen Sproßzellen sich teilende Zellkerne finden; den einen Teil des Zellkerns sieht man hier in die Tochterzelle hinausgehen. Auf Tafel III ist auch Sacch. cerevisiae I dargestellt und hier sieht man zugleich eine Teilung der Zellkerne wegen anfangender Sporenbildung und wegen der Keimung der Sporen. Auf den folgenden Tafeln werden dieselben Verhältnisse in betreff der übrigen in der Abhandlung besprochenen Arten illustriert. Die Tafel IX ist koloriert.

Klöcker (Kopenhagen).

Guilliermond, A., Contribution à l'étude des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des champignons. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. No. 3.)

Der Verf. hatte die metachromatischen Körperchen bei den Hefearten untersucht und hatte sie als Reservematerial betrachtet; sie sind in der Tat sehr reichlich im Epiplasma der Asci vorhanden und von den Sporen absorbiert. Seither haben diese Körperchen Anlaß zu zahlreichen Kontroversen gegeben. Matruchot und Molliard betrachten sie beim Stichococcus bacillaris als Degenerationsprodukte, die besonders von der Chromatolyse herrühren; Dietrich und Liebermeister (Centralbl. f. Bakt.) halten sie für Elemente, die dazu bestimmt sind, den Sauerstoff zu fixieren; Vaney und Conte finden sie in Opalina intestinalis wieder und zeigen, daß sie vom nukleären Chromatin herrühren, welches aus dem Kern austritt und sich in diese Körperchen verwandelt; sie betrachten dieselben als Zymogenkörnchen. Der Verf. nimmt also die Frage wieder auf und studiert besonders das Epiplasma der Ascomyceten. Bei Ascobulus marginatus und einem verwandten Genus, dem Amauroascus, sind die metachromatischen Körperchen außerordentlich zahlreich; sie entstehen in den Mutterzellen der Asci und besonders in der Nähe des Kerns; sie bilden sich jedoch, im Gegensatz zu der Ansicht Vaneys und Contes, auf Kosten des Cytoplasmas und nicht auf Kosten des Chromatins. Der Kern erleidet während der Bildung der Körperchen keine Aenderung der Struktur und tritt mit dem Cytoplasma nicht in Verbindung; indessen könnte er eine indirekte Rolle bei dieser Erscheinung spielen, und viele bei der tierischen Cytologie beobachteten Tatsachen scheinen in der Tat zu bestätigen, daß der Kern bei der Absonderung beteiligt ist. Die metachromatischen Körperchen werden von den Sporen absorbiert und erhalten sich

wie Reservematerial. Der Verf. findet diese Körperchen ebenfalls bei Exoascus deformans, Taphrina aurea und Peziza cocinea. Bei Otidea leporina und Tuber melanosporum fehlen sie, sind jedoch durch Oelkügelchen ersetzt.

Der Verf. untersucht hierauf gewisse Schimmelarten und zeigt, daß die darin reichlich vorhandenen metachromatischen Körperchen in alten Kulturen verschwinden und nicht als Entartungsprodukte aufgefaßt werden können. Sie sind namentlich sehr zahlreich in dem Fruktifikationsapparat von Sterigmatocystis nigra.

J. Beauverie (Lyon).

Guilliermond, A., Recherches sur la germination des spores dans le Saccharomyces Ludwigii (Hansen). (Bull. de la Soc. Mycologique de France. T. XIX. 1903. Fasc. 1.)

Hansen hat gezeigt. daß die Sporen bei Sacch. Ludwigii auf eine besondere Weise keimen, indem sie zuerst ein Promycelium bilden, von welchem dann die Sprossung stattfindet. In den allermeisten Fällen findet ein Verschmelzen der Sporen vor der Keimung statt. Verf. bestätigt die Beobachtung Hansens und fügt hinzu, daß er außer der Normalform auch eine Varietät der genannten Art beobachtet hat, wo keine solche Verschmelzung stattfand. Er hat ferner die Beobachtung gemacht, daß auch zwei nicht in demselben Ascus erzeugte Sporen verschmelzen können.

Verf. beschreibt die Bildung des Promyceliums und findet bei dieser Art dasselbe merkwürdige Verhalten, welches von Hansen bei Johannisberg II beobachtet wurde, nämlich daß die Spore in ihrem Innern ohne vorausgehende vegetative Vermehrung Sporen zu bilden im stande ist. Verf. gibt Abbildungen fusionierender Sporen von Sacch. Ludwigii, welche in dem von ihnen gebildeten Promycelium Endosporen gebildet haben. Wenn die Sporen fusionieren, vereinigen sich ihre Kerne, um später sich wieder zu teilen, wenn das Promycelium eine gewisse Größe erreicht hat. Verf. betrachtet diesen Prozeß als Konjugation durch Isogamie. Das merkwürdige bei Sacch. Ludwigii ist dann, daß die Konjugation hier zwischen den Sporen, ehe die Keimung stattfindet, vor sich geht, während bei Schizosaccharomyces und Zygosaccharomyces die vegetativen Zellen kopulieren, worauf sie in einen Ascus umgebildet werden. Klöcker (Kopenhagen).

Hinsberg und **Roos,** Ueber einige Bestandteile der Hefe. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXVIII. 1903. p. 1 ff.)

Die Verff. preßten untergärige Bierhefe in einer Handpresse scharf ab, und extrahierten den abgepreßten Kuchen mit kochendem Alkohol. Der nach dem Verdampfen des Alkohols hinterbleibende syrupöse Rückstand wurde mit Sodalösung oder sehr verdünnter Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt und dann mit Aether ausgeschüttelt. In der alkalisch-wässerigen Flüssigkeit verbleiben Phosphate, Peptone, Glutenkaseïn, Purinbasen und geringe Mengen von Fettsäuren. Der mit Alkohol extrahierte Preßkuchen enthält reichliche Mengen Eiweiß, neben celluloseähnlichen Verbindungen. Die Verff. beschäftigten sich nur mit der Unter-

suchung des ätherischen Auszugs. In den Aether waren neben dem Hefefett, das die größte Menge ausmachte (2,3—2,8 Proz. der getrockneten Hefe), zwei Cholesterine und ein ätherisches Oel übergegangen. Der nach Verdampfen des Aethers hinterbleibende Rückstand wurde durch Kochen mit Kalilauge verseift, und das der Seifenlösung beigemengte Cholesterin und das ätherische Oel durch Aether ausgeschüttelt. Aus der Seifenlösung wurden durch geeignete Behandlung isoliert:

1) Eine gesättigte Fettsäure vom Schmp. 54°, deren Analyse die Formel $C_{15}H_{30}O_2$ ergab;

2) eine ungesättigte Säure $C_{12}H_{22}O_2$, die bei 12 mm Druck bei 130—150° siedete;

3) eine ungesättigte Säure $C_{18}H_{34}O_2$, die aber nicht ganz rein erhalten werden konnte und von der nicht sicher angegeben wnrden kann, ob sie mit Oelsäure identisch ist.

Außerdem waren noch andere Säuren, wahrscheinlich Homologe der Oelsäure, vorhanden, die aber nicht isoliert und charakterisiert wurden.

Das Hefefett scheint nach angestellten Versuchen der Träger der abführenden Wirkung der Hefe zu sein.

Die aus der Hefe isolierten Cholesterine schmolzen bei 159° und bei 145—148°. Das bei 159° schmelzende Cholesterin war mit dem von Schulze und Barbieri entdeckten Caulosterin, das denselben Schmelzpunkt zeigt, nicht identisch.

Das ätherische Oel der Hefe war farblos, zeigte in konzentriertem Zustand Geruch nach Hyazinthen, in verdünntem spezifischen Hefegeruch. Es war mit Wasserdämpfen flüchtig.

Koeppen (Hannover).

Bleisch, C. und **Regensburger, P.**, Wie weit wird der Endvergärungsgrad von Maischtemperatur und Maischverfahren beeinflußt. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. Heft 8.)

Verff. berichten über Laboratoriumsversuche, die von ihnen zur Beantwortung der drei Fragen: „In welcher Weise beeinflußt die Höhe der Maischtemperatur den Endvergärungsgrad, und welchen Einfluß übt eine teilweise Abtötung der Diastase während des Maischprozesses auf den Endvergärungsgrad aus, und endlich, welchem dieser beiden Faktoren ist der größere Einfluß auf den Endvergärungsgrad zuzuschreiben?“ angestellt wurden. Sie kommen dabei zu folgenden Resultaten:

Die Verzuckerungszeit verlangsamt sich bei der niedrigsten und höchsten Temperatur. Ferner wird die Vergärung mit dem Steigen der Maischtemperatur erniedrigt. Ein niedriger Endvergärungsgrad gewährleistet nicht immer die Haltbarkeit der Biere, denn falls das filtrierte Bier Zellen einer höher vergärenden Hefe (wilder Hefe) enthält, so kann dann immer noch eine Nachgärung und damit verbunden Trübung und Absetzen eintreten. Es wird daher der günstige Einfluß eines niederen Vergärungsgrades durch einen möglichst infektionsfreien Betrieb unterstützt werden müssen. Die teilweise Abtötung der Diastase hat neben der Verlangsamung

der Verzuckerung eine Erniedrigung des Endvergärungsgrades zur Folge, wenn diese Erniedrigung auch nicht so bedeutend ist, wie unter dem Einfluß der verschiedenen Maischtemperaturen.

In der Praxis könnte also nach Ansicht der Verff. auch eine Erniedrigung des Endvergärungsgrades entweder durch Einmaischen bei 56—57° oder durch teilweise Abtötung bezw. Schwächung der Diastase während des Maischens erzielt werden. Schließlich wird noch auf die bisher eingeschlagenen Wege, eine zu energische Einwirkung auf die Diastase auf die Zuckerbildung zu verhindern, hingewiesen. Kausch (Charlottenburg).

Bokorny, Th., Ueber die Fruchtätherbildung bei der alkoholischen Gärung. (Chem.-Ztg. Bd. XXVIII. 1904. No. 24.)

Die Nebenprodukte der alkoholischen Gärung sind in neuerer Zeit weniger ins Auge gefaßt worden als sie verdienen, sonst könnten nicht so widersprechende Meinungen bestehen, wie man sie tatsächlich vorfindet. Manche nehmen für die Nebenprodukte (Glycerin, Bernsteinsäure, Fruchtäther) eigene Gärungserreger an.

Verf. hält es mit zahlreichen Forschern für sehr wahrscheinlich, daß die Hefe selbst jene Nebenprodukte bildet.

Wenn die alkoholische Gärung durch ein besonderes Enzym oder durch eine eigene Plasmaart des Hefeorganismus bewirkt wird, so ist es die Frage, ob denn nicht auch für jene Nebenprodukte besondere enzymatische Vorgänge die Ursache sind oder ob sie durch das gewöhnliche Gärungsferment gebildet werden. Die Frage kann in der Weise gelöst werden, daß man untersucht, ob die Bedingungen, unter denen Alkoholbildung und Kohlensäureentwickelung stattfindet, immer dieselben sind, wie diejenigen, bei denen Fruchtätherbildung auftritt. Nach meinen bisherigen Versuchen ist dies durchaus der Fall. Es wurden Versuche mit hochkonzentrierten Zuckerlösungen und viel Hefe gemacht, bei denen, wie schon mitgeteilt, die alkoholische Gärung sistiert werden kann, ohne daß zunächst ein Absterben der „Zymase" eintritt. Da die Fruchtätherbildung in solchen konzentrierten Zuckerlösungen auch ungewöhnlich deutlich ist, falls sie überhaupt eintritt, so eignet sich dieses Verfahren in erster Linie zur Entscheidung der gestellten Frage.

100 g Rohrzucker wurden mit 100 g Preßhefe zusammengerieben; desgleichen 100 g Traubenzucker mit 100 g Preßhefe, was ungefähr einer Zuckerkonzentration von 58 Proz. entspricht.

Bei Rohrzucker trat keine Gärung ein, obwohl das Gärungsferment noch intakt war, wie sich bei Verdünnung eines kleinen Teiles dieser Mischung mit Wasser sogleich herausstellte. Die Gärung unterblieb nur deswegen, weil die Inversion des Rohrzuckers nicht eintrat; so starke Zuckerkonzentrationen liefern das zur Inversion nötige Wasser nicht, das Invertin selbst ist dabei völlig aktionsfähig, wie der Verdünnungsversuch ebenfalls deutlich zeigt.

In dem Rohrzuckerversuch unterblieb nun jegliche Fruchtäther-

bildung, während beim Traubenzuckerversuch mit der Gärung auch der Fruchtäthergeruch eintrat.

Als nun bei einem weiteren Versuch die Konzentration noch erhöht wurde (100 g Rohrzucker bezw. Traubenzucker wurden mit 50 g Preßhefe zusammengerieben, was nach erfolgter Verflüssigung der Masse eine Konzentration von ca. 74 Proz. ergab), da trat in beiden Mischungen weder Gärung noch Fruchtätherbildung ein. Das Gärungsferment war vorübergehend inaktiviert (nicht zerstört), es konnte also auch in der Traubenzuckermischung keine Gärung eintreten; das gleichzeitig Ausbleiben des Fruchtäthergeruches war mir ein sprechender Beweis dafür, daß Gärung und Fruchtätherbildung zusammenfallen.

Desgleichen zeigten Versuche mit nicht gärungsfähigen Stoffen (Milchzucker etc.), daß die Fruchtätherbildung mit der alkoholischen Gärung zusammenfällt.

Nach Brefeld besteht ein Unterschied zwischen Produkten der Gärung, solange die Hefezellen noch lebenskräftig sind, und zwischen jenen Produkten, welche bei lang andauernder Gärung auftreten, wobei Zellen im Absterben begriffen sind. Produkte des Absterbens pflanzlicher Zellen sollen außer Kohlensäure und geringen Mengen von Aethylalkohol die Fuselöle (höhere Alkohole) sein und ferner die aromatisch riechenden Stoffe, die oft von wunderbarer Feinheit sind. Nach meinen eigenen Beobachtungen dürfte sich die Sache anders verhalten. Denn bei den eingangs erwähnten Versuchen mit viel Hefe und 40—60-proz. Zuckerkonzentrationen trat der aromatische Fruchtäthergeruch immer sogleich bei Beginn der Gärung auf, wo an ein Absterben der Hefezellen noch gar nicht zu denken war. Durch so konzentrierte Zuckerlösungen sterben die Hefezellen erst nach etwa 18—20 Tagen ab, wobei dann allerdings sehr bald auch das Gärungsvermögen verschwindet. Ich halte diese Fruchtäther für ein ebenso konstantes Nebenprodukt der alkoholischen Gärung wie die Bernsteinsäure und das Glycerin. Man bekommt sie auch, wenn man verdünntere Zuckerlösungen (10—20-proz.) mit Hefe ansetzt. Den Einwand, daß beim Zusammenreiben mit Rohrzucker eine Verletzung der Hefezellen und ein Absterben eintrete, kann man widerlegen, indem man die Hefe in fertige 50—60-proz. Zuckerlösung verbringt; dann bildet sich auch sogleich mit der Gärung der Fruchtäthergeruch.

Wenn nun auch festzustehen scheint, daß die Fruchtätherbildung mit der durch die „Zymase“ bewirkten alkoholischen Gärung des Zuckers zusammenfällt, so soll doch nicht behauptet werden, daß die Menge des Fruchtäthers eine konstante sei. Vielmehr hat es den Anschein, als fänden ungemein große Schwankungen in der Fruchtätherbildung statt, schon durch die Verschiedenheit der äußeren Bedingungen, noch mehr vielleicht durch die Verschiedenheit der „Zymasen“ selbst, welche von verschiedenen Hefen gebildet werden. Es sind von mir über diesen Punkt weitere Untersuchungen geplant. Vorläufig sei nur darauf hingewiesen, daß bei anderen enzymatischen Vorgängen ein ähnlicher Wechsel in den

Produkten nicht festgestellt wurde, und daß bei der Zymasewirkung auch die schon lange bekannten Produkte Bernsteinsäure und Glycerin der Schwankung unterliegen. Nach Pasteur geben 100 Gew.-T. Zucker bei der Gärung zwischen 2,5 und 3,6 Gew.-T. Glycerin. Die Menge des gebildeten Glycerins schwankte je nach Temperatur, Nährlösungsgehalt, Konzentration, Hefenrasse u. s. w. „In jeder durch Hefe eingeleiteten, in alkoholischer Gärung begriffenen Flüssigkeit hat man Glycerin und Bernsteinsäure gefunden, doch finden sich dieselben durchaus nicht in konstantem Verhältnisse vor. Die Beschaffenheit der Hefe und die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit nehmen hier Einfluß“ (Thausing, Malzbereitung und Bierfabrikation). Autoreferat.

Bokorny, Th., Ueber das verschiedene Gäraroma, je nach den Gärungsbedingungen. (Allg. Br. u. Hopfenztg. 19, IV. 1904.)

Bei den Versuchen über den Verlauf der Gärung in konzentrierten Zuckerlösungen und bei Anwendung von viel Hefe ist es dem Verf. aufgefallen, daß man recht verschiedenartigen Gärgeruch und Gärgeschmack erhalten kann, wenn man die Bedingungen abändert. Es wurde dabei durchaus mit künstlichen Gärlösungen gearbeitet, die nichts als Rohrzucker oder Traubenzucker oder auch Lävulose enthielten und mit einer großen Menge gewöhnlicher Preßhefe, wie man sie in München aus den Bierbrauereien erhält.

Trotzdem nur mit Bierhefe gearbeitet wurde, konnte in einem Falle der deutlichste Malagaweingeruch und -Geschmack erhalten werden, der nur durch die Anwesenheit bitterer Stoffe (Peptone?) verdorben wurde; in einem anderen Falle kräftiger Geruch nach frisch gebackenem Brote, wieder ein anderes Mal angenehmer Obstgeruch u. s. w. Der letztere, den ich auch Fruchtäthergeruch nennen möchte, ist der häufigste.

Wenn man 10-proz. Zuckerlösungen in einem bedeckten Gefäße bei 25° C zum Gären aufstellt, unter Zusatz von einigen Gramm Hefe, so stellt sich neben lebhaftem Aufschäumen bald auch ein deutlicher Obstgeruch ein. Die Fruchtätherbildung scheint mir sogar eine notwendige Begleiterscheinung der Gärung zu sein, mit anderen Worten: Fruchtäther (hauptsächlich Verbindungen von Fettsäuren mit Alkoholen, ferner auch wohlriechende Aldehyde) bilden sich regelmäßig bei der Gärung neben Alkohol Kohlensäure, Glycerin, Bernsteinsäure. Wie schon in der Chem.-Ztg., 1902, mitgeteilt, schließe ich das aus der beobachteten Koinzidenz der Fruchtätherbildung mit der alkoholischen Gärung. Niemals tritt dieselbe auf, wenn keine alkoholische Gärung stattfindet; umgekehrt konnte ich bis jetzt noch keinen Fall von alkoholischer Gärung beobachten, bei welchem die Bildung dieser Nebenprodukte ganz unterblieb.

Der Geruch und Geschmack des Malagaweines kommen erst nach langer Zeit zum Vorschein, wie folgender Versuch lehrt:

375 g Preßhefe,
250 „ reine Dextrose

werden zusammengerieben und bei Hochsommertemperatur (6. bis 18. Juni) in einem lose bedeckten Gefäße stehen gelassen. Am 9. Juni war schon sehr starker Fruchtäthergeruch zu bemerken. Am 13. Juni hatte dieser nachgelassen. Nun wurde filtriert. Das Filtrat hatte bitteren Geschmack, wahrscheinlich von den extrahierten Hefepeptonen.

Nun wurde die auf dem Filter zurückgebliebene Hefe nochmals mit 250 g Dextrose vermischt. Nach 24 Stunden war ziemlich starke Gärung eingetreten. Nach 48 Stunden, also am 15. Juni, zeigte sich noch nichts Besonderes. Am 18. Juni, also nach 12 Tagen, vom Anfang des Versuches an gerechnet, oder nach 5 Tagen, von der Erneuerung des Zuckers an gerechnet, wurde mit etwas Wasser verdünnt und filtriert. Das Filtrat hatte in sehr starkem Grade den Geruch und den Geschmack des Malagaweines, nur war der Geschmack beeinträchtigt durch bittere Beimengungen (wahrscheinlich Peptone).

Da ich bei keinem anderen Versuch diesen Geruch und Geschmack erhielt, so müssen hier besondere Bedingungen maßgebend gewesen sein, die bei den zahlreichen anderen Versuchen fehlten. An der Temperatur kann es nicht liegen, da ja auch sonst Temperaturen von 20—25° C oft angewandt wurden. An der Konzentration allein kann es auch nicht gelegen sein, da ja noch viele Versuche mit der gleichen Zuckerkonzentration gemacht wurden. Nur eines war anders als sonst; nämlich die Erneuerung des Zuckers nach 7 Tagen. Somit wurde der bereits von der Hefe angegriffene Zucker mit seinen zahlreichen Spaltungsprodukten (Alkohol, Kohlensäure, Glycerin, Bernsteinsäure, Fruchtäther etc.) entfernt, und die in ihrem Gärvermögen sowie in der ganzen Lebenskraft schon geschwächte Hefe von neuem mit Zucker zusammengebracht.

Die bereits im Absterben begriffene „Zymase" scheint mir an dem Zucker jene eigentümliche Gärung hervorzurufen, die von dem Aroma des Malagaweines begleitet ist.

Von besonderen Bedingungen scheint auch die Entstehung des so charakteristischen Geruches nach frisch gebackenem Brot abhängig zu sein. Ich habe denselben nie beobachtet bei verdünnten Zuckerlösungen, dagegen häufig bei konzentrierten, namentlich wenn dieselben einer Temperatur von 30—40° C ausgesetzt und mit viel Hefe versehen waren. In 100 ccm einer 60-proz. Rohrzuckerlösung wurden verschiedene, aber immer beträchtliche Quantitäten von Preßhefe gebracht:

Versuch a:		Versuch c:	
60-proz. Rohrzuckerlösung	100 g	50-proz. Rohrzuckerlösung	100 g
Preßhefe	100 „	Preßhefe	25 „
Versuch b:		Versuch d:	
60-proz. Rohrzuckerlösung	100 g	60-proz. Rohrzuckerlösung	100 g
Preßhefe	50 „	Preßhefe	10 „

Die Versuche wurden bei 35° C angestellt und lose verschlossen.

Nach 8 Tagen war bei d kein deutlicher Geruch nach frisch gebackenem Brot vorhanden, dagegen erheblicher Fruchtäthergeruch.

Bei c war nach 8 Tagen etwas Brotgeruch da. Bei a und b dieser sehr stark.

Nun wandte ich noch höhere Temperatur an, ziemlich 40—45° C.

Versuch e:

Preßhefe	100 g
Rohrzucker	66 „

wurden in einer Reibschale zusammengerieben bis zur Verflüssigung der Masse und völligen Lösung des Zuckers, dann in den Brutofen gestellt. Nach 15 Stunden zeigte sich ein sehr kräftiger Geruch nach frisch gebackenem Brot. Die Gärung war schwach, da die angewandte hohe Temperatur derselben weniger günstig ist. Bei 50° C verliert bekanntlich die Hefe ihre gärungserregende Kraft. Da gerade bei dieser für die „Zymase" ungünstigen Temperatur die Bildung des Brotaromas besonders stark ist, so kam mir der Gedanke, ob denn nicht ein besonderes Enzym an diesem Aroma schuld sei, dessen Optimaltemperatur eine höhere ist.

Versuche mit Gemischen, in denen die alkoholische Gärung unmöglich war, z. B. wegen zu hoher Zuckerkonzentration oder wegen Abwesenheit gärungsfähiger Zucker (kein Traubenzucker, kein Rohrzucker, dafür Milchzucker), zeigten mir aber immer, daß dieses Aroma des frisch gebackenen Brotes dann gänzlich ausbleibe, wenn die Gärung selbst unterbleibt. Also ist es die Zymase selbst, welche das Brotgärungsaroma entwickelt. Die hohe angewandte Temperatur ist für diese Wirkung, d. h. die Erzeugung dieses Nebenproduktes der Gärung, ungemein günstig. Es scheint, daß die „Zymase" im Zustande der Schwächung viel mehr von diesem Aroma erzeugt als bei normaler Beschaffenheit.

Autoreferat.

Bokorny, Th., Einige Beobachtungen über Essigbildung. (Wettend. Zeitschr. f. Spir.-Ind. 1904. 15. Februar.)

Es werden einige Experimente über die Lebensbedingungen des Essigpilzes beigebracht.

Nach den neuesten Forschungen von Buchner sollen es auch hier Enzyme sein, welche die für die Praxis so wichtige Veränderung des Alkohols bewirken. Der Essigsprit soll ein oxydierendes Enzym oder mehrere produzieren, welche den Alkohol bei Gegenwart von Luft in Essigsäure verwandeln. B. schließt dies daraus, daß auch der abgetötete Essigpilz noch im stande ist, Essigsäure aus Alkohol zu erzeugen. Doch könnte es sich hier vielleicht ähnlich wie mit der „Zymase" verhalten, bei der die Enzymnatur zweifelhaft ist. Es können ja an der Zelle einzelne Protoplasmateile noch lebend bleiben, während die Zelle als Ganzes tot ist und nicht mehr sich vermehren, nicht mehr assimilieren kann.

Ob der essigbildende Teil der Bakterienzelle in seinem ganzen sonstigen Verhalten dem Gesamtprotoplasma des Essigpilzes so nahe kommt, wie die Zymase dem Protoplasma der Hefezelle, ist erst noch zu erforschen.

Da der Alkohol bis zur Konzentration 14 Proz. von dem Essigpilz zu Essigsäure vergoren wird, so muß dem betreffenden Ferment eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol zugeschrie-

ben werden, welche sich der Resistenz der Zymase gegen Alkohol vergleichen kann.

Ob der Pilz selbst bei solchen Konzentrationen des Alkohols noch erheblich wächst, soll hiermit untersucht werden.

Versuch 1.
40 g Bier
15 Proz. Alkohol zugesetzt
Kräftige Spur Essigbakterien.

Versuch 2.
40 g Bier
10 Proz. Alkohol
Kräftige Infektion mit Essigbakterien.

Versuch 3.
40 ccm Bier
5 Proz. Alkohol
Kräftige Spur Essigbakterien.

Versuch 4 (Kontrollversuch).
40 ccm Bier
Kein Alkohol zugesetzt
Kräftige Spur Essigbakterien.

Nach 4 Tagen war bei Zimmertemperatur (unter Tag 18 ^{0} C, nachts kühler) im Kontrollversuch eine reichliche Essigpilzvegetation entstanden; in allen drei anderen keine.

Nach 6 Tagen hatte Versuch 3 (mit 5 Proz. Alkohol) auch etwas von diesem Pilz angesetzt, aber bei weitem nicht soviel wie der Kontrollversuch. Versuch 1 und 2 waren auch jetzt noch pilzfrei.

Somit unterdrücken 18 und 13 Proz. Alkohol das Wachstum des Essigpilzes ganz, 8 Proz. verlangsamen es noch bedeutend (die Zahlen 18, 13, 5 sind so zu verstehen, daß überall noch die 3 Proz. Alkohol des Bieres dazu gezählt sind).

Das Protoplasma der Essigpilzzelle ist also in seiner Gesamtleistung, wie sie sich in der Assimilation, dem Wachstum und der Vermehrung zeigt, schon gehemmt bei einer Verdünnung des Alkoholes, welche die Essiggärung noch nicht aufhören macht. Denn der Essigpilz vermag, in genügender Menge zugesetzt, noch 14-proz. Alkohol anzugreifen, welches allerdings die äußerste Grenze ist.

Hiermit haben wir also schon im ersten Griff einen Unterschied zwischen der Gesamtlebenskraft des Essigpilzes und der oxydierenden Kraft desselben konstatiert. Erstere erlicht erheblich früher als letztere. Immerhin ist das aber nur ein gradweiser Unterschied zwischen beiden.

Bezüglich der Widerstandsfähigkeit gegen Essigsäure verhält es sich wohl ähnlich.

Nach den vorliegenden Notizen schaden 2-proz. Essigsäure dem Essigpilz noch nicht; im Gegenteil scheint er hier erst in seiner vollen vitalen Blüte zu stehen.

Bei einer Konzentration von 8 Proz. Essigsäure wächst er hingegen wahrscheinlich nicht mehr, während die Essiggärung dabei noch weiter geht; man findet im Handel Gärungsessig vor, welcher 10—12 Proz. Essigsäure enthält.

Weiterhin wurde geprüft auf die Wirkung der Borsäure. 0,2—1 Proz. Borsäure beeinträchtigen bezw. verhindern das Wachstum des Essigpilzes (noch mehr aber das Wachstum und sogar die Gärung der Bierhefe).

0,1 Proz. benzoësaures Natron ließ erst nach 6 Tagen etwas Pilzvegetation aufkommen, 0,5 Proz. gar nicht, während in einem Kontrollversuch reichlich Pilzbildung im Essig auftrat.

Alaun (wasserhaltig) verhindert bei 0,5 Proz. die Essigbilbildung und das Wachstum des Essigpilzes noch nicht, 1 Proz.

verzögert etwas. Alaun ist also nicht sehr wirksam gegen den Essigpilz.

O- und P-Kresol vermögen schon bei 0,1 Proz. die Essigbildung zu verhindern. Autoreferat.

Coupin, Sur l'assimilation des alcools et des aldéhydes pour le Sterigmatocystis nigra. (Comptes rend. de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 389.)

Am geeignetsten zur Deckung des Kohlenstoffbedarfs eines Schimmelpilzes, wie Sterigmatocystis nigra, ist bekanntlich ein Zucker, wie Saccharose oder Glukose. Indessen vermag dieser Pilz auch den Kohlenstoff anderer organischer Körper zu verwerten. Verf. stellte hierüber genaue Versuche an und teilt die Resultate mit, die er mit den gebräuchlichsten Alkoholen und Aldehyden erhalten hat. Die Pilze wurden in Raulinscher Nährlösung gezüchtet, bei deren Herstellung aber Zink, Eisen und Silicium als unnötig fortgelassen wurde. Von Saccharose wurde nur die Hälfte zugesetzt. An Stelle der anderen Hälfte gab Verf. die zu untersuchenden Alkohole und Aldehyde zu, nachdem — etwa nach Ablauf 1 Woche — die eingesäten Sterigmatocystis-Sporen eine beträchtliche Mycelbildung hervorgerufen hatten. Nachdem das Wachstum beendet schien, wurde das Mycel abfiltriert, völlig getrocknet und gewogen. Nach den gewonnenen Resultaten konnte Verf. bei den in Anwendung gebrachten Alkoholen 4 Gruppen unterscheiden:

1) Assimilierbare Alkohole. Hierzu gehören der Aethylalkohol, das Glycerin, der Erythrit und der Mannit.
2) Nicht assimilierbare Alkohole, die aber keinen schädlichen Einfluß auf die Entwickelung des Pilzes ausüben: Methylalkohol und Glykol.
3) Nicht assimilierbare Alkohole mit geringer Giftwirkung: Amylalkohol und Allylalkohol.
4) Nicht assimilierbare Alkohole mit ausgesprochener Giftwirkung: Propylalkohol, Butylalkohol und Benzylalkohol.

Die bei dem Versuch unterworfenen Aldehyde (Formaldehyd, Acetaldehyd, Benzaldehyd) erwiesen sich als nicht assimilierbar und giftig. Koeppen (Hannover).

Osterwalder, A., Beiträge zur Morphologie einiger Saccharomyceten-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweinhefen. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1903.)

In der schweizerischen Hochebene ist der Obstbau von großer volkswirtschaftlicher Bedeutung und spielt speziell die Verwertung des Mostobstes zur Herstellung von Obstweinen eine große Rolle. Umfassende Untersuchungen über Gärung der Obstweine lagen aber bisher nicht vor. Seit einigen Jahren hat die Versuchsstation in Wädensweil die Erforschung der Obstweingärung in den Bereich ihrer Tätigkeit gezogen. Verf. stellt sich jetzt die folgenden Fragen: Welche Beziehungen bestehen zwischen den Obstweinhefen und den Weinhefen? Gehören die Hefen, die bei der spontanen

Gärung der Obstweine hauptsächlich in Frage kommen, zu denselben Heferassen wie unsere Weinhefen, oder lassen sich zwischen ihnen wesentliche Unterschiede erkennen?

Er isolierte von verschiedenen Obstmosten Hefearten, welche eingehend untersucht wurden. Es zeigte sich, daß unter ihnen Rassen gefunden wurden, welche in betreff ihrer Gestalt nicht von Sacch. cerevisiae unterschieden werden konnten, ferner daß unter diesen Obstweinhefen einige zur Sacch. pastorianus-Gruppe und andere zur Sacch. ellipsoideus-Gruppe gerechnet werden können. Uebrigens wird die alte Erfahrung hervorgehoben, daß das Nährmedium einen starken Einfluß auf die Gestalt der Zellen ausübt.

Verf. bestimmt nicht die Zeit für die Sporenbildung von dem Augenblicke, wenn die Anlagen sichtbar sind, aber erst von dem Zeitpunkte, wenn die Sporen reif sind. Dies ist insofern nicht glücklich, als dadurch ein Vergleichen mit den bisher ausgeführten Untersuchungen unmöglich ist. In betreff ein paar Rassen fand er, daß sie reife Sporen bei 25° C schon nach 12 Stunden gebildet hatten.

Eine Rasse zeichnete sich durch ihre große Sporenanzahl in einer einzelnen Zelle aus; so wurden bis 12 in einer Zelle beobachtet, 8 war eine gewöhnliche Anzahl. Eine andere Rasse bildete leichter Sporen in Birnmost als auf Gipsblöcken. Wenn Verf. als eine Merkwürdigkeit notiert, daß er Sporenbildung in der vergorenen Flüssigkeit fand, so ist dies ja etwas, das von mehreren anderen Forschern beobachtet worden ist.

Uebrigens gibt er eingehende Untersuchungen über die 12 isolierten Rassen und verweilt besonders bei ihrem Wachstum auf festen Nährböden. Ihre Charaktere werden in einer Tabelle zusammengefaßt und auf 2 Tafeln sind Mikrophotographieen von einigen unter ihnen reproduziert. Wiederholte Versuche mit verschiedenen Säften und 2 der isolierten Rassen ergaben, daß die eine bei der Gärung Schwefelwasserstoff zu bilden vermag, die andere hingegen nicht.

Die gründliche Arbeit ist ein wertvoller Zuwachs unserer Kenntnisse über die bei der Obstweingärung vorkommenden Hefenarten. Klöcker (Kopenhagen).

Winter, H., Biological eximinations in the layer beer Brewers laboratory and their significance. (The Brewer and maltster. Vol. XXII. No. 12 und 13.)

In dem in der Monatsversammlung der Americain Brewing Institute zu New York gehaltenen Vortrage weist Winter auf die wissenschaftliche Ausbildung der modernen Brauer hin und geht dann zu einer Beschreibung der in den amerikanischen Brauereien am häufigsten vorkommenden Infektionen und der Erforschung der Ursachen dieser Infektionen über.

Kausch (Charlottenburg).

Wender, Ueber die Entstehung des Fuselöls im Branntweine. (Oesterreichische Brennerei-Zeitung. Jahrg. II. 1904. No. 2.

Verfasser gibt zunächst eine Zusammenstellung der bisher gemachten und in der Literatur niedergelegten Beobachtungen verschiedener Forscher über die Entstehung des Fuselöls im Branntwein. Darnach sind die Ansichten über den Ursprung des Amylalkohols im Branntwein geteilt. Die einen behaupten, der Amylalkohol sei ein Produkt der normal verlaufenden Gärung, während andere der Ansicht sind, daß sich das Fuselöl als Nebenprodukt der Gärung bildet, und zwar wenn die Hefe im Absterben begriffen ist (d. h. gegen Ende der Gärung). Andere Forscher schreiben die Bildung der Fuselöle einer durch besondere Bakterien hervorgerufenen Gärung zu.

Perdrix und Beijerinck haben nachgewiesen, daß Granulobacter butylicum bei der Gärung den Isobutylalkohol, den steten Begleiter des Amylalkohols im Fuselöl, hervorbringt. Ferner stellten Pereire und Guignard denaturierten Spiritus in der Weise her, daß die in gewöhnlicher Weise erzeugten Maischen mit einem aus kalkhaltigen Gewässern isolierten amylozymen Pilz einer Gärung unterworfen wurden. Dieser Pilz ähnelt, rein gezüchtet, dem Amylobacter von van Tieghem und auch dem Buttersäurebacillus von Pasteur. Nach Ansicht Märckers kann geschwächte Hefe leicht die Bildung größerer Mengen an Fuselöl erzeugen. Das Gleiche tun nach Meinung dieses Forschers Bakterien.

Sodann weist Wender auf die Untersuchungen von Raymann und Kruis hin, welche früher gleichfalls die Entstehung des Amylalkohols auf unter ungünstigen Bedingungen aufbewahrte Hefen und ungünstige Gärungsverhältnisse überhaupt zurückführten. Die neuerdings von ihnen angestellten Versuche ergaben, daß weder eine ungünstige Zusammensetzung des Gärungssubstrates noch das Alter und der physiologische Zustand der Hefe die Bildung von Amylalkohol herbeiführen, sondern daß der Amylalkohol wahrscheinlich aus gewissen, nicht näher festgestellten Zuckerarten entsteht, die aus den Polysacchariden des Rohmaterials durch Hydrolyse erzeugt werden. Kausch (Charlottenburg).

Laborde, Les ferments de la maladie du vin poussé ou tourné. (Comptes rendus. T. CXXXVIII. 1904. p. 228.)

Schon früher war es dem Verf. gelungen, die durch die Untersuchungen von Pasteur und Duclaux als die Erreger der als „Umschlagen“ des Weines bezeichneten Weinkrankheiten erkannten fadenförmigen Mikroorganismen in Reinkultur zu züchten. Es gelang ihm auch, später mit einer solchen Reinkultur, die aus neuem Weine gewonnen war, diese Krankheit in demselben sterilisierten Weine zu erzeugen, womit erwiesen war, daß das Umschlagen des Weines durch einen spezifischen Pilz, und nicht durch die Symbiose mehrerer Organismen zu stande kommt. Ferner zeigte der Verf., daß die von ihm aus jungen, gesunden oder aus alten, verdorbenen Flaschenweinen gezüchteten Pilze, in gleicher Weise, wie der von Gayon und Duboury gefundene, die Fähigkeit besaßen, Mannit zu bilden. Zur weiteren Bestätigung dieser Resultate hat Verf. mehrere sterilisierte Weißwein- und Rotweinproben geimpft und zwar:

1) mit dem mannitbildenden Organismus von Gayon und Duboury;
2) mit dem von ihm selbst gezüchteten Pilz des umgeschlagenen Weines;
3) mit einem aus umgeschlagenem Flaschenweine aus dem Jahre 1890 isolierten Organismus.

Die Proben wurden vom April 1901 bis Oktober 1903 bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach Ablauf dieser Zeit hatten sich alle drei Mikrobenarten sowohl im Weißwein wie im Rotwein vermehrt. Was die Säurebildung und den Verbrauch an Zucker betrifft, so war eine Verschiedenheit zu bemerken.

	Flüchtige Säure auf Schwefelsäure berechnet		Noch vorhandener reduzierender Zucker	
	Weißwein	Rotwein	Weißwein	Rotwein
	g	g	g	g
Kontrollprobe	0,75	0,83	2,90	2,00
Wein mit dem Pilz 1	0,94	1,08	1,60	0,9
„ „ „ „ 2	1,02	1,27	1,40	Spuren
„ „ „ „ 3	1,08	3,38	Spuren	„

Hiernach hat nur der Pilz No. 3 ein charakterisches Umschlagen des Weines verursacht; No. 2, der in früheren Versuchen in 8 Monaten 3,01 g Essigsäure und 0,3 g Propionsäure erzeugte, hatte im vorliegenden Falle nur geringe Säuremengen produziert. Da diese Pilze aber offenbar in Bezug auf ihre biochemische Wirksamkeit sehr leicht veränderlich sind, so läßt sich auch für No. 1 nicht mit Sicherheit entscheiden, ob er fähig ist, das Umschlagen des Weines zu verursachen oder nicht.

Um die Gleichartigkeit seiner beiden Organismen des umgeschlagenen Weines zu beweisen, hat Verf. ihre Fähigkeit, Mannit zu bilden, verwendet. Alle drei Pilze wurden auf Bierwürze ausgesät, die 1mal mit Glukose, 1mal mit Lävulose versetzt war, und nach beendigter Kohlensäureentwickelung die Flüssigkeiten analysiert. Der Glukose gegenüber verhielten sich die drei Pilze völlig gleich, während der Lävulose gegenüber sich kleine Verschiedenheiten zeigten, die Verf. als Ausdruck geringer Rassenverschiedenheiten ansieht. Koeppen (Hannover).

Rullmann, W., Ueber Reaktionen des oxydierenden Enzyms der Kuh- und Frauenmilch. (Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1904. Heft 2.)

Die in neuerer Zeit unternommene Einführung bakterienarmer Milch zur Ernährung von Kindern und Kranken an Stelle der sogenannten sterilen läßt es für die bakteriologische Milchkontrolle wünschenswert erscheinen, durch ein expedites Verfahren die angewendeten Erhitzungsgrade, welche 68—69 nicht überschreiten sollen, sicher und einwandfrei rasch ermitteln zu können. — Nachdem die Vorzüge einer nicht zu hoch erhitzten Milch gegenüber der sterilisierten geschildert sind und das Forster-Gerbersche Verfahren zur Darstellung einer solchen angeführt ist, unterzieht Verf. drei der gebräuchlichsten Enzymnachweismethoden einer Prüfung.

Die erzielten Resultate sind in Tabellen angeordnet; zuerst wird das wohl älteste derartige Reagens, die alkoholische Guajakharzlösung unter Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd besprochen. Nach Zusammenstellung der neueren Literatur teilt Verf. seine eigenen Erfahrungen über Darstellung und Haltbarkeit mit und befindet sich dabei in voller Uebereinstimmung mit einer anderen fast gleichzeitig erschienenen Arbeit, welche von Zink[1]), „über die Unterscheidung roher von gekochter Milch vermittelst der Guajaktinktur" veröffentlicht wurde.

Um gerade bei den zu Kontrollzwecken ausgeführten Enzymreaktionen gleichmäßige Resultate zu erhalten, ist es nach dem Verf. unerläßlich, stets eine konstante, im Sommer und Winter leicht erhältliche Normaltemperatur von + 12° C bei allen Reaktionen der Milchproben anzuwenden.

Selbstverständlich sind die beschriebenen Reaktionen nur für die im Molkereibetrieb in Betracht kommende Sammelmilch angezeigt, da bekanntermaßen die Milch eines einzelnen Tieres zu großen Schwankungen in chemisch-biologischer Hinsicht unterworfen ist.

Tabelle I zeigt den zeitlichen Einfluß verschiedener Temperaturen auf das deutliche Eintreten der Reaktion bei derselben Rohmilchprobe; aus Tabelle II ergibt sich die Einwirkung verschiedener Erhitzungsdauer bei 65, 68, 69 und 70° bei jedesmal derselben Rohmilch, nachdem sämtliche Proben nach stattgehabter Erhitzung wieder auf die Normaltemperatur von + 12° C abgekühlt worden waren. Um ferner nachzuweisen, wie sich bezüglich der Enzymreaktion ein Gemisch roher ungekochter und gekochter Milch verhält, wurden Untersuchungen angestellt, deren Resultate auf Tabelle III verzeichnet sind.

Aus diesen 3 Tabellen ist die Wohlverwendbarkeit der alkoholischen Guajakharzlösung bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd ersichtlich.

Die Beobachtung, daß alle Körper, welche sich durch Oxydation färben, zum Nachweise oxydierender Substanz in der Milch, Hefe und anderen organischen Körpern verwendet werden können, gab Schardinger[2]) Veranlassung, Methylenblau in dieser Hinsicht zu prüfen. Auch diese Methode prüfte Verf. nach und bediente sich 1) der Methylenblaulösung, dargestellt aus 5 ccm gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung + 195 ccm Wasser und 2) der Methylenblau-Formalinlösung, dargestellt aus 5 ccm Methylenblaulösung wie vorstehend, 5 ccm Formalin und 190 ccm Wasser. Diese Reaktionen nach Schardinger sind auf Tabelle IV verzeichnet. Es sei hervorgehoben, daß hierbei alle Proben vor der Prüfung im Wasserbade auf 45° erwärmt werden müssen und erst dann mit je 1 ccm der betreffenden Lösungen versetzt und umgeschüttelt zur Beobachtung im Wasserbade belassen werden.

---

1) Milchzeitung. 1903. No. 13—14.

2) Schardinger, Fr., Ueber das Verhalten der Kuhmilch gegen Methylenblau und seine Verwendung zur Unterscheidung von ungekochter und gekochter Milch. (Zeitschr. für Untersuchung von Nahrungs- u. Genußmitteln. Bd. V. p. 1113.)

Auch dieses Verfahren ist sehr gut verwendbar und läßt mittelst Methylenblau-Formalinlösung die kritischen Temperaturen 68 und 71° auf das schärfste differenzieren; keinesfalls aber ist diese Reaktion so einfach und praktisch wie die zuerst beschriebene Guajakreaktion und wie die dritte noch folgende, welche von Storch[1]) empfohlen wurde. Tjaden, Koske und Hertel[2]) benutzten in ihrer bekannten Arbeit auch dieses Reagens (Paraphenylendiaminchlorhydrat nebst Wasserstoffsuperoxyd), kamen jedoch zu keinen zufriedenstellenden Ergebnissen, da sie Schüttelreaktionen ausführten. Verf. gelangte dagegen zu ganz anderen, und zwar für die genannten Zwecke äußerst günstigen Ergebnissen, indem er Schichtreaktionen anwendete. Nach ihm setzt man 10 ccm der in einem Reagenzröhrchen befindlichen zu untersuchenden Milch 10 Tropfen einer 3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung zu und schüttelt um, dann läßt man aus einer Pipette langsam und ruhig 1 ccm wässeriger, filtrierter 2-proz. Paraphenylendiaminchlorhydratlösung an der gesenkten Glaswandung herabfließen und setzt das Röhrchen unter Vermeidung von Schütteln und Bewegen zur Beobachtung in ein Gestell. Die erzielten Resultate werden am besten durch Beifügen von Tabelle V ersichtlich:

Prüfung mit Paraphenylendiaminchlorhydratlösung.
Die Milchproben wurden nach dem Erhitzen auf 12° abgekühlt.

No.	Behandlung der Milch	Beobachtete Reaktion
1	Rohe Milch, nicht erhitzt	Sofort kräftiger graublauer Ring, der sich bald verstärkte und diffundierte
2	1 Stunde auf 68—69°	
3	1/2 Stunde auf 72°	Innerhalb 10 Minuten keine Reaktion; nach längerem Stehen bilden sich allmählich zunehmende grau-blaue Wolken
4	1/2 Stunde auf 90°	
5	1/2 Stunde gekocht	

Diese Ergebnisse dürften beweisen, daß man so die angewendeten Erhitzungsgrade am besten zu ermitteln und zu differenzieren vermag; keine der vorher beschriebenen Reaktionen ist so scharf und einfach auszuführen. Läßt man dagegen die Reagentien unter Schütteln aufeinander einwirken, so sind allerdings die in den verschiedenen Milchproben eintretenden Farbennuancen nicht genügend scharf, um daraufhin ein bestimmtes Urteil begründen zu können.

Um sich zu vergewissern, ob vielleicht die Anwesenheit von Kohlensäure beim Eintritt dieser Reaktion irgend eine Rolle spiele, wurde solche in sterile Milch eingeleitet, doch trat hierdurch keine Farbenveränderung ein.

Auch die Dialysierbarkeit dieses oxydierenden Enzyms der Kuhmilch wurde geprüft; es ergab sich, daß, ebenso wie Marfan und Gillet beobachteten, nach möglichstem Abzentrifugieren des Milchfettes geringe Mengen einer leicht gelblichen, klaren Flüssigkeit durch Chamberland- und Berkefeld-Kerzen filtrierten,

1) Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Bd. XIX. 1898. p. 13.
2) Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVII. 1900. p. 110.

jedoch weder mit Guajaklösung noch mit Paraphenylendiaminchlorhydratlösung eine Reaktion zeigten. Hierdurch dürfte die Nichtdialysierbarkeit dieses Enzyms bewiesen sein.

Zum Schluß untersuchte Verf. auch die Frauenmilch auf ihren Enzymgehalt. Während es nach den früheren Forschungen nur möglich war, höchstens 6—12 Tage nach der Entbindung mittelst Guajaklösung Enzym nachzuweisen, gelang es mittelst der neuen Art von Anwendung des Paraphenylendiaminchlorhydrat noch 40 Tage nach der Entbindung deutliche Einwirkung zu erzielen. Aus Tabelle VI ist der Vorteil der neuen Reaktionsart bei 7 Frauenmilchproben zu ersehen. Autoreferat.

Oppenheimer, Carl, Angebliche Stickstoffgärung durch Fäulnisbakterien. [Zu der Arbeit von A. Schittenhelm und F. Schröter: „Ueber die Spaltung der Hefenukleinsäure durch Bakterien.“] (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XLI. 1904, p. 3.)

Verf. weist auf methodische Fehler in der Arbeit von Schittenhelm und Schröter hin, die einmal darin bestanden, daß die genannten Autoren den unverbrauchten Ueberschuß des (zwecks Explosion des Wasserstoffs und des Methans) dem Gasgemisch zugesetzten Sauerstoffs bei der Berechnung ihrer ersten Analyse nicht in Abzug gebracht, sondern als Stickstoff bezeichnet haben. Ferner sei aber auch in den folgenden Bestimmungen der Gehalt des Gärungsgases an Stickstoff zu hoch gefunden worden. Die Anwesenheit von Wasserstoff und Methan könne nicht nur deshalb ausgeschlossen werden, weil eine spontane Explosion nicht erzielt wurde. Durch Zusatz einer gemessenen Menge Wasserstoff hätte eine Explosion auf jeden Fall herbeigeführt werden müssen, da nur das Ausbleiben einer Kontraktion bei erfolgter Explosion die Abwesenheit brennbarer Gase beweise. Der auf diese Weise übersehene Wasserstoff und das Methan sei so wiederum für Stickstoff angenommen worden, vielleicht auch der zugesetzte Sauerstoff, über dessen Menge nichts angegeben sei.

Die tatsächliche Abnahme des Stickstoffs in der gärenden Flüssigkeit hätte, nach Ansicht des Verf., durch Stickstoffbestimmungen in derselben vor und nach der Gärung kontrolliert werden müssen. Koeppen (Hannover).

Teichert, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze. (Milch-Ztg. 1903. No. 50.)

Verf. hat in seiner ersten Mitteilung über diesen Gegenstand [1]) das Verhalten dreier häufig in Molkereiprodukten auftretender Pilze — Mucor mucedo, Oidium lactis und Penicillium glaucum — zu verschiedenen Zuckerarten, besonders Milchzucker, näher studiert und beschäftigt sich in der vorliegenden Arbeit mit den bei der Einwirkung dieser Organismen auf die Eiweißkörper der Milch vor sich gehenden Umsetzungen. Er fand, daß in sehr

1) Diese Zeitschr. II. Abt. Bd. X. p. 219.

sorgfältig und vollkommen sterilisierter Milch durch Oidium lactis innerhalb 3 Monaten nur ein geringer Abbau der Eiweißkörper eintritt. Während der Gesamtstickstoff unverändert blieb, war der lösliche Stickstoff in dieser Zeit von 4,88 auf 9,15 Proz. gestiegen (berechnet auf Gesamt-N = 100). Hiervon entfielen 6,71 Proz. auf den N der löslichen Proteïnstoffe und nur 2,44 Proz. auf Amid-N. Ein weit energischerer Abbau der Eiweißkörper erfolgte durch Mucor mucedo. Hier war der lösliche Stickstoff innerhalb 20 Tagen von 7,46 auf 48,50 Proz. (Gesamt-N = 100) gestiegen. Die größere Menge, nämlich 33,58 Proz. bestand aus Amidstickstoff, nur 14,92 Proz. aus Proteïnstickstoff. In noch stärkerem Maße griff Penicillium glaucum die Eiweißstoffe der Milch an. Der N-Gehalt des löslichen Anteils derselben stieg im Laufe von 2 Monaten von 5,45 auf 77,58 Proz. (Gesamt-N = 100), wovon 7,88 Proz. aus Proteïnstickstoff, 69,70 Proz. aus Amidstickstoff bestanden.

T. beschreibt die Methoden, nach welchen er den N-Gehalt der verschiedenen in Betracht kommenden Gruppen von Stickstoffverbindungen ermittelte und gibt auch Menge und Zusammensetzung der herangewachsenen Pilzkulturen an.

Vogel (Posen).

Bersteyn, P., Ueber einige in den Kulturen zur Reinzüchtung der Nitratbildner regelmäßig auftretende Bakterienarten. (Arbeiten a. d. bakteriol. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. III. Heft 1.)

Es ist bekannt, daß sich der Reinzüchtung von Nitrobakterien große Schwierigkeiten entgegenstellen, weil dieselben gewöhnlich von anderen Mikroorganismen begleitet sind, die unter denselben Bedingungen zu gedeihen vermögen wie jene. Diese Bakterien ihrer Art nach festzustellen und ihre biologischen Eigenschaften näher zu erforschen ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

Zur Gewinnung von Reinkulturen wurden die von Winogradsky und Omelianski angegebenen Nährböden benutzt. Es gelang auf diese Weise 4 neue Arten herauszuzüchten, welche Bact. comes, Bact. modestum, Bact. debile und Pseudomonas humicola benannt wurden und deren Eigenschaften ausführlich beschrieben werden.

Die übrigen Resultate seiner Untersuchung faßt der Autor in Folgendem zusammen:

1) Es gibt eine Anzahl Bakterienarten, welche nahezu regelmäßig sich in den Kulturen entwickeln, die für die Isolierung der Nitratbildner angesetzt werden. Sie sind im stande sich in den Kulturen zu vermehren und bei fortgesetzter Ueberimpfung dauernd zu erhalten.

2) Die vier bei der vorstehenden Untersuchung isolierten Arten dieser Gruppe wachsen auch auf gewöhnlichen, an organischen Stoffen reichen Nährböden gut.

3) Sie sind nicht im stande in destilliertem Wasser sich zu vermehren.

4) Sorgfältig von jeder Spur organischer Substanz befreite Nährlösungen in der Zusammensetzung, wie sie für Nitratbildner verwendet werden, bieten keiner der Arten hinreichende Lebensbedingungen.

5) Dagegen reichen die geringen Mengen organischer Substanz, wie sie im gewöhnlichen destillierten Wasser und in den als chemisch rein für analytische Zwecke bezogenen Chemikalien enthalten waren, hin, um ihnen eine sehr geringe Vermehrung zu gestatten.

6) Noch besser vermögen sich die Bakterien zu entwickeln, wenn mehrere Arten zusammen gezüchtet werden; es erfolgt dann sogar eine ziemlich bedeutende Vermehrung.

7) Es ist deshalb nicht notwendig anzunehmen, daß die Bakterien auf die Stoffwechselprodukte der Nitrobakterien allein angewiesen sind.

8) Jedenfalls sind die Arten im stande, die geringen Mengen organischer Substanz, die sie in den Lösungen vorfanden, vielleicht auch die Stoffwechselprodukte der Nitrobakterien in der Weise auszunutzen, daß die eine Art auch die Stoffwechselprodukte der anderen noch weiter verarbeitet.

9) Das regelmäßige Zusammenleben einiger dieser Arten deutet darauf hin, daß sie eben nur in Gemeinschaft im stande sind, sich unter so ungünstigen und einseitigen Verhältnissen wie in den Kulturen für Nitratbildner zu erhalten und zu entwickeln.

10) Das allmähliche Verschwinden der anderen Bakterienarten aus den Kulturen für Nitratbildner ist dann darauf zurückzuführen, daß diese nicht in gleicher Weise im stande sind, sich die Stoffwechselprodukte anderer Bakterien zu nutze zu machen, und so bleiben schließlich nur die Arten übrig, welche diese Fähigkeit besitzen.

11) Die vier Bakterienarten sind also hiernach nicht im stande, anorganische Stickstoff- und Kohlenstoffquellen zum Aufbau organischer Substanz zu verwenden.

12) Wohl aber sind sie befähigt, die geringsten, chemisch kaum nachweisbaren Spuren organischer Substanz noch für sich nutzbar zu machen. Carl (Karlsruhe).

Buhlert, Die Lebensbedingungen der Salpeterbakterien. (Fühlings landw. Ztg. 1904. Heft 1.)

Verf. gibt einen Ueberblick über die praktisch wichtigsten Eigenschaften und Lebensbedingungen der nitrifizierenden Bakterien. Er weist darauf hin, daß diese Mikroorganismen mit rein unorganischer Nahrung vorlieb nehmen, und daß organische Stoffe sogar schädigend auf dieselben einwirken. Dieser Umstand kann in Böden, welche reich an organischer Substanz sind, oder solche in der Stallmistdüngung zugeführt erhalten, nachteilig auf die Salpeterbildung einwirken. Daher setzt diese erst ein, wenn die organischen Substanzen, namentlich die leicht löslichen, durch andere Bakterien bis zu einem gewissen Grade abgebaut sind. Aus diesem Grunde kommt ein frischer Stallmist nicht so bald zur Wirkung wie ein verrotteter.

Da die Nitrifikationsmikroben ein starkes Sauerstoffbedürnis haben, so arbeiten sie in einem lockeren, leichten Boden viel energischer als in einem dichten, schweren. In Böden der letzteren Art muß daher durch geeignete Bearbeitung die Tätigkeit dieser Organismen unterstützt werden. Durch dieses Verhalten der nitrifizierenden Bakterien erklärt sich auch die gute Wirkung derjenigen Düngemittel auf leichtem Sandboden, welche den Stickstoff als Ammoniak oder in organischer Form enthalten, während auf bindigem Lehmboden der Salpeter zu besserer Wirkung gelangt.

Auf allen nicht mit Pflanzen bestandenen Böden wird während der wärmeren Jahreszeit der gebildete Salpeter mehr oder weniger stark durch Versickerung verloren gehen. Die auf solche Weise entstehenden Stickstoffverluste werden bei der Schwarzbrache besonders groß sein, weshalb diese nur auf sehr schwere Lehmböden ausgedehnt werden sollte.

Zum Schlusse weist Verf. noch darauf hin, daß bei der Ueberführung des Ammoniaks in Salpetersäure stets Verluste eintreten, daß daher niemals sämtlicher Stickstoff, welcher im Ammoniak enthalten ist, in der Salpetersäure wieder zum Vorschein kommt. Auch diese Tatsache ist nicht ohne praktische Bedeutung.

Vogel (Posen).

Gerlach, Die Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffes. (Illustr. landw. Ztg. 1904. No. 5 und 7.)

Verf. weist auf die große Bedeutung der Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffes für Industrie und Landwirtschaft hin und beschreibt alsdann die Verfahren, nach welchen elementarer Stickstoff in Form chemischer Verbindungen festgelegt werden kann. Den besten praktischen Erfolg haben bisher die Bemühungen ergeben, welche dahin zielen, den freien N mittels Chemie und Elektrizität in chemische Verbindungen überzuführen, und unter den hier in Betracht kommenden Methoden steht die bereits in großem Maßstabe durchgeführte Gewinnung von Kalkstickstoff an erster Stelle.

Leitet man Luft, welche auf einfache Weise von ihrem Sauerstoffgehalt befreit worden ist, über pulverisiertes glühendes Calciumkarbid, so entsteht Calciumcyanamid:

$$CaC_2 + 2N = CaCN_2 + C$$

Das mit Aetzkalk und Kohle verunreinigte technische Produkt hat man Kalkstickstoff genannt. Es weist einen zwischen 9 und 21 Proz. schwankenden, gewöhnlich zwischen 14 und 17 Proz. liegenden N-Gehalt auf und hat bei umfangreichen Vegetationsversuchen von Wagner und Gerlach eine recht bedeutsame Düngewirkung ausgeübt.

Bei den zahlreichen G.schen Versuchen war der Kalkstickstoff bei Anwendung in Vegetationsgefäßen und auf kleinen Parzellen zu Gerste, weißem Senf und Möhren dem Salpeter- und Ammoniakstickstoff an Wirkung gleich und an Produktionsfähigkeit sogar etwas überlegen. Zur Erzeugung derselben Menge Trockensubstanz wurden aufgenommen:

Ammoniakstickstoff 100 Teile, Kalkstickstoff 95 Teile,
Salpeterstickstoff 100 Teile, Kalkstickstoff 77 Teile.

Auf freiem Lande sind so günstige Ergebnisse bisher nicht erzielt worden. Hier betrug die Wirkung des Kalkstickstoffs im Mittel sämtlicher in verschiedenen Jahren und mit verschiedenen Früchten durchgeführter Versuche 74 Proz. derjenigen des Salpeterstickstoffs. Es zeigte sich, daß der Kalkstickstoff umso besser zur Ausnutzung durch die Pflanzen gelangte, je später er angewendet wurde. Wurde er direkt vor der Aussaat auf die Felder gebracht, so stieg sein Wirkungswert auf 80 Proz. der Salpeterstickstoffwirkung.

Bezüglich der Bestrebungen, die stickstoffsammelnde Energie der in den Kulturböden vorhandenen stickstoffbindenden Bakterien, besonders der neuerdings näher studierten Azotobacter-Arten, zu erhöhen und diese Organismen dadurch zu einer stärkeren Ansammlung von N im Boden anzuregen, teilt Verf. mit, daß nennenswerte Erfolge in dieser Richtung bisher nicht erzielt werden konnten. Die N-sammelnden Bakterien zeigen stets nach ihrer Isolierung aus dem Boden die größte Virulenz und erfahren bei weiterer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden eine Abnahme derselben, welcher durch Schaffung möglichst günstiger Ernährungs- und Wachstumsbedingungen nicht entgegengewirkt werden kann. Da diese Bakterienarten eine lockere, gut durchlüftete Ackerkrume lieben, so kann der Landwirt allerdings durch alle auf eine gute Durchlüftung des Bodens gerichteten Maßnahmen die Tätigkeit dieser nützlichen Organismen unterstützen und dadurch nicht unbedeutende Mengen von N gewinnen. Einer zweckmäßigen Bodenbearbeitung legt daher G. die größte Bedeutung bei, er will jedoch in dieser Richtung nicht so weit wie Caron gehen, welcher bekanntlich die Wiedereinführung der Schwarzbrache empfohlen hat. G. hält diese nur in wenigen Ausnahmefällen für lohnend und kommt auf Grund seiner auf dem Versuchsgute Pentkowo ausgeführten Versuche zu der Ueberzeugung, daß sie auf mittleren und besseren Böden viel zu teuer ist.

In Pentkowo wurde auf einigen Parzellen Roggen nach Brache, auf anderen Roggen nach Hafer mit und ohne Stickstoffdüngung angebaut. Es wurden geerntet:

	1902	1903	
I.	Brache nichts	Roggen $18^1/_2$ Ctr.	Zusammen $18^1/_2$ Ctr. Körner
II.	Hafer 15 Ctr.	Roggen 15 Ctr.	Zusammen 30 Ctr. Körner
III.	Hafer mit Chilesalpeter $17^1/_2$ Ctr.	Roggen mit Chilesalpeter 19 Ctr.	Zusammen $36^1/_2$ Ctr. Körner

Eine einfache Rechnung lehrt, daß die zweite und dritte Fruchtfolge bedeutend rentabler als die erste war.

Bei der Fruchtfolge II, Roggen nach Hafer ohne Stickstoff, sind 88 Pfd. N pro Morgen, bei der ersten Fruchtfolge, Roggen nach Brache, nur 45 Pfd. N. pro Morgen geerntet worden. „Wenn daher auch auf den Bracheparzellen eine stärkere Stickstoffsammlung als auf den Haferparzellen stattgefunden hat, was übrigens

noch nicht einmal feststeht, so ist dieser N recht schlecht ausgenutzt worden.“ Vogel (Posen).

Hiltner, L., Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin). (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1904. p. 127.)

Die zu den Versuchen verwendeten Reinkulturen wurden auf Grund früher gewonnener Erfahrungen, hauptsächlich in Bezug auf die Virulenz und die Verschiedenheiten in dem Nährstoffbedürfnis der Knöllchenbakterien, in einer Weise hergestellt, daß sie dem früheren Nitragin in jeder Beziehung überlegen waren. Einen nicht minderen Einfluß übten die früheren Versuchsergebnisse auf die Ausgestaltung des Impfverfahrens aus. Nachdem im Jahre 1902 ausgeführte kleinere Versuche ergeben hatten, daß die schädliche Wirkung der Säureausscheidungsstoffe auf die Knöllchenbakterien abgeschwächt oder völlig beseitigt werden kann, sobald man der Impfflüssigkeit auch geeignete Nährstoffe für die Bakterien, namentlich Pepton und Traubenzucker, zugibt, wurde ein entsprechendes Verfahren für die vorliegenden Versuche allgemein vorgeschlagen und es wurden jeder Lieferung von Knöllchenbakterien auch Nährstoffe beigegeben und außerdem empfohlen, die Bakterien nicht in Wasser, sondern möglichst in Magermilch zu verteilen. Im ganzen wurden mehr als 400 solcher Versuche durchgeführt, wovon auf Bayern 98 entfallen, über deren Verlauf Verf. in eingehender Weise berichtet. Von diesen 98 Versuchen verliefen 81 günstig, 9 resultatlos und 8 unentschieden.

Für die einzelnen Pflanzenarten stellt sich das Verhalten folgendermaßen:

	Gesamtzahl der Versuche	günstig	resultatlos verlaufen	unentschieden
Serradella	23	21	1	1
Gelbe Lupine	23	20	2	1
Gemisch von Leguminosen	15	14	—	1
Wicken	7	5	1	1
Erbswicken	6	6	—	—
Blaue Lupinen	5	3	—	2
Erbsen	5	3	2	—
Rotklee	4	1	1	2
Inkarnatklee	2	2	—	—
Luzerne	2	1	1	—
Pferdebohnen	3	2	1	—
Peluschken	1	1	—	—
Sojabohne	1	1	—	—
Zottelwicke	1	1	—	—
	98	81	9	8

Aus dieser Zusammenstellung ist zu ersehen, daß sich namentlich bei Serradella und Lupinen die Impfung in hervorragendem Maße bewährt hat, was umso bedeutungsvoller ist, als man in den Kreisen der Landwirtschaft durch frühere mißglückten Versuche zu der Anschauung gelangt war, diese Pflanzenarten wären auf den betreffenden Böden überhaupt nicht zum Gedeihen zu bringen.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Versuche macht sich überall die Absicht geltend, sich durch Anbau von Lupinen und Serradella unter Ausführung der Impfung die großen Vorteile der Gründüngung zu nutze zu machen, und es steht wohl zu erwarten, daß es dadurch gelingen wird, die in Bayern auf weiten Strecken sichtbar zum Ausdruck gelangte Stickstoffarmut des Bodens zu beheben und zugleich den Boden durch Humusanreicherung zu verbessern. Die Serradella brachte es auch im ersten Jahre ihres Anbaues zu einer großen Massenentwickelung, wodurch das Unkraut vollständig unterdrückt wurde. Auch bei den übrigen Hülsenfrüchten und Kleearten, die in Bayern schon seit langer Zeit gebaut werden, hat die Impfung in den meisten Fällen noch eine Ertragssteigerung gebracht, obgleich auch die ungeimpften Pflanzen fast überall Knöllchen entwickelten. Nicht nur in dem Fall, wo die Knöllchenbakterien vollständig im Boden saßen, sondern auch da, wo sie anscheinend in großer Menge, aber doch nicht in einer der anzubauenden Pflanzenart völlig angepaßten Form vorhanden sind, lassen sich demnach durch die Impfung Erfolge erzielen, und Verf. ist in Anbetracht der geringen Kosten und der leichten Ausführbarkeit des Verfahrens der Ansicht, daß es unter allen Umständen zweckmäßig erscheint, das Saatgut jeder Hülsenfrucht und Kleeart mit Reinkulturen zu impfen, um den Erfolg möglichst zu sichern. Stift (Wien).

Remy, Stickstoffbindung durch Leguminosen. [Vortrag, gehalten auf der 74. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte zu Karlsbad. 1902.] Leipzig (F. C. W. Vogel) 1903.

Nach einem kurzen geschichtlichen Rückblick bespricht Verf. die durch neuere Forschungen ermittelten Beziehungen zwischen Leguminosen und Knöllchenbakterien. Er betont, daß die Aufnahme freien Stickstoffs durch Hülsenfrüchte nur unter Mitwirkung von Knöllchenbakterien erfolgen kann, und daß andererseits diese Mikroorganismen nur in Lebensgemeinschaft mit einer Leguminose ihre stickstoffsammelnden Fähigkeiten voll entfalten können. Die Wirtspflanze hat von ihren Knöllchenbakterien nur dann Vorteil, wenn ein gewisser Gleichgewichtszustand in der Vegetationsenergie der beiden Organismen vorliegt. Von größter Bedeutung für den Eintritt dieses Gleichgewichtszustandes sind die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien. Durch Nobbe und Hiltner ist festgestellt worden, daß Knöllchenbakterien derselben Art bezüglich ihrer stickstoffsammelnden Energie außerordentlich verschieden sein können. Es ist einleuchtend, daß der Virulenzgrad dieser Bakterien bei ihrer Verwendung zur Bodenimpfung beim Leguminosenanbau von ausschlaggebender Bedeutung sein muß.

Bezüglich der Arteinheit der Leguminosenbakterien äußert sich R. dahin, daß die meisten bestehenden Modifikationen des Knöllchenbakteriums als Anpassungsformen einer Art zu bezeichnen sind. Die an eine bestimmte Hülsenfrucht angepaßten Bakterien verlieren die Wirksamkeit für alle übrigen Leguminosen, wirksames Impfmaterial muß daher der betreffenden Leguminose gut angepaßte Knöllchenbakterien enthalten. Neuerdings ist es nun, vor allem durch die Forschungen Hiltners, gelungen, die Be-

dingungen näher kennen zu lernen, unter welchen Knöllchenbakterien gleichen Anpassungsgrades die größte Virulenz aufweisen, und damit hat sich die Möglichkeit ergeben, solche hochvirulente Bakterien zum Zwecke der Leguminosenimpfung zu isolieren. Sind die äußeren Lebensbedingungen der Wirtspflanze sehr gute, dann können nur besonders wirksame Bakterien in die Wurzelhaare eindringen, und von den eingewanderten Mikroben erweisen sich wiederum die zuerst eingedrungenen als die virulentesten. Bei der Weiterzüchtung von Reinkulturen ist die Zusammensetzung des Nährbodens nicht ohne Einfluß auf die Erhaltung der Virulenz.

R. hält es im Interesse der Sicherheit der Impfwirkung für richtig, wenn die Impfbakterien nicht schon bei der Saat, sondern erst nach der Bildung infektionsfähiger Wurzelhaare bei den aufgelaufenen Pflänzchen in Anwendung kommen.

Mit Ausführungen über die Unverträglichkeit der Hülsenfrüchte, über den Einfluß von Witterungs- und Bodenverhältnissen auf die Stickstoffsammlung und über die volkswirtschaftliche Bedeutung der ganzen Frage schließt Verf. seine interessanten Mitteilungen.

Vogel (Posen).

Schneidewind, Die Gründüngung auf besserem Boden. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 7.)

Bei den Versuchen des Verf. über die Wirkung einer Gründüngung auf schweren Böden konnten durch Anbau eines Gemisches von Pferdebohnen, Erbsen und Wicken auf humosem Lehmboden im Mittel von 7 Versuchsjahren (1896—1902) 118 kg Stickstoff auf 1 ha pro Jahr aufgespeichert werden. Dieser zum größten Teil aus der atmosphärischen Luft stammende Stickstoff brachte bei nachfolgenden Zuckerrüben einen durchschnittlichen Mehrertrag von 60 dz Rüben pro Hektar und war dadurch ebenso rentabel als eine reichliche Salpeterdüngung in den gleichen Versuchsjahren. Von Kartoffeln wurde der Gründüngerstickstoff weit schlechter verwertet, wohl hauptsächlich infolge ihrer kürzeren Vegetationsperiode. Die sehr bedeutenden Stickstoffmengen, welche von diesen Pflanzen aufgenommen wurden (55 kg N auf 1 ha) kamen vornehmlich in dem sehr üppigen Krautwuchs, weniger im Knollenertrag zum Ausdrück.

Durch Anwendung von Phosphorsäure und Kali neben der Gründüngung konnten die Mehrerträge noch ganz bedeutend gesteigert werden.

Außerordentlich günstig wirkte eine kräftige, durch sofortiges Umwerfen der Getreidestoppel bewirkte Durchlüftung der Ackerkrume. In einem derartig behandelten Felde gehen die bakteriologischen Vorgänge, vor allem Nitrifikation und Stickstoffassimilation, viel energischer vor sich, als in einer bestellten Fläche. Verf. baute auf nebeneinander liegenden Parzellen, deren eine nach dem Umbrechen der Stoppel unbestellt in rauher Furche liegen geblieben war, während die andere eine Einsaat von Senf erhalten hatte, Kartoffeln an und erntete im ersten Falle 24,4 dz Knollen entsprechend 4,68 dz Stärke pro Hektar mehr, als nach der Senfgründüngung. Nach Leguminosen konnten allerdings noch

höhere Erträge erzielt werden, als auf den nach dem Prinzip der Brache behandelten Parzellen. Bei Berechnung der Rentabilität ist aber zu berücksichtigen, daß die Einsaat von Gründüngungspflanzen ziemlich kostspielig ist, während der in dem unbebauten Boden durch die Tätigkeit von Bodenbakterien festgelegte Stickstoff kostenlos gewonnen wird. Vogel (Posen).

Bouilhac et Giustiniani, Sur des cultures de diverses plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries. (Comptes rendus de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 293.)

Die Verff. zeigten früher, daß auf einem sandigen Boden, der mit Mineralsalzen versetzt, jedoch keine stickstoffhaltigen Körper enthielt und frei von organischer Substanz war, gewisse Süßwasseralgen, vergesellschaftet mit Bakterien, wachsen können. Dieselben binden schnell eine hinreichende Menge Stickstoff aus der Luft, um einer höheren Pflanze, wie z. B. Buchweizen, eine normale Entwickelung zu gestatten. Schon Schloesing und Laurent hatten erwiesen, daß auch andere Pflanzen als Leguminosen mit Hülfe niederer grüner Pflanzen auf Kosten des Luftstickstoffs sich entwickeln können. Später machten Dehérain und Demoussy ähnliche Beobachtungen an einer blauen Lupine, die, ohne Bakterienknöllchen an den Wurzeln zu tragen, auf einem von Algen durchwachsenen stickstofffreien Sandboden sich entwickelten.

Die Verff. ließen Senf, Mais, Kresse und Buchweizen auf sterilem Sande wachsen, einmal mit und einmal ohne gleichzeitige Aussat von Algen, und verglichen die auf die eine und die andere Weise erhaltenen Resultate. Auf dem nicht mit Algen besäten Kontrollboden entstand spontan ein Algenwachstum, so daß auch hier Stickstoffassimilation der höheren Pflanzen möglich war und auch tatsächlich stattfand, aber sie trat bei allen vier Pflanzen hier in weit geringerem Maße ein, als auf den gleich zu Anfang mit Algen besäten Kulturböden. Die Kulturen dauerten 5 Wochen und zeigten übereinstimmend eine außerordentlich günstige Beeinflussung der Stickstoffassimilation durch die Algen.

Versuche über die Diffusion des an der Oberfläche gebundenen Stickstoffs nach den tieferen Schichten der Kulturböden ergaben eine sehr große Diffusionsfähigkeit der stickstoffhaltigen organischen Substanz, wodurch die rasche Aufnahme des Stickstoffs durch die höheren Pflanzen erklärlich wird. In keinem Falle wurde Nitrat-Stickstoff gefunden, sei es, daß dieser vollständig verbraucht, sei es, daß die stickstoffhaltige Substanz vor ihrer Umwandlung in Nitrat assimiliert wurde.

Zum Vergleich kultivierten die Verff. dieselben Pflanzen ohne gleichzeitige Aussaat von Algen, aber unter Zusatz von Natriumnitrat. Es ergab sich, daß die Einwirkung der Mikroorganismen gleichwertig war der einer genügenden Menge Natriumnitrat.

Koeppen (Hannover).

Nilson, A., Die Ursache des Wachstums der Gerste. (Allgemeine Brauer- und Hopfen-Zeitung. 1904. No. 82.)

Verf. hat durch eingehende Versuche festgestellt, daß der

Lebensanfang im Gerstenkorn von der Tätigkeit von Bakterien abhängig ist und nicht auf derjenigen von Enzymen beruht. Im Gerstenkorn finden sich sowohl Säure erzeugende als auch Ammoniak entwickelnde Bakterien (letztere sind Fäulnisbakterien) vor. Im normalen Zustande wird die Tätigkeit der Fäulnisbakterien durch die entwickelte Säure verhindert. Letztere löst das unlösliche Eiweiß. Kausch (Charlottenburg).

Lott, Zersetzung von Salicylsäurelösungen durch Schimmelpilze. (Journ. Soc. Chem. Ind. 1903. p. 198.)

Verf. hat die Beobachtung gemacht, daß sich Schimmelpilze (wahrscheinlich Ustilagineen) in einer verdünnten Salicylsäurelösung (0,086 g im Liter) angesiedelt hatten und in eifriger Sporenbildung begriffen waren. Er stellte daraufhin fest, daß in einer Lösung von 0,043 g Salicylsäure im Liter letztere durch Zusatz der Schimmelpilze bereits nach 5 Wochen vollkommen zersetzt war, und daß diese Zersetzung durch einen geringen Zusatz von Eisenchlorid noch beschleunigt wurde. Utz (Würzburg).

Klöcker, A., Sur la classification du genre Penicillium, et description d'une espèce nouvelle formant des asques. (Comptes rendus des Travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. VI. 1903. 2. Livraison.)

Von askosporenbildenden Penicillium-Arten kannte man bisher, soweit Ref. bekannt, nur 4 Arten und zwar: P. glaucum, P. luteum, P. aureum und P. insigne. P. glaucum bildet Sklerotien, in welchen sich Asci entwickeln; die übrigen drei Arten bilden keine Sklerotien. Die Askosporen des P. luteum sind mit Querleisten versehen, bei P. aureum sind sie glatt und bei P. insigne sind sie mit kurzen, stumpfen Spitzen dicht besetzt und sehr groß (16—20 μ breit). Die in dieser Abhandlung beschriebene neue Art, P. Wortmanni, zeichnet sich dadurch aus, daß die Askosporen mit Warzen versehen sind. Die Askosporen werden außerordentlich leicht gebildet. Uebrigens ist das Aussehen der Vegetation ganz wie ein Gymnoascus, besonders hat P. Wortmanni große Aehnlichkeit mit dem von Ref. beschriebenen Gymnoascus flavus[1]), indem die Asken von einem losen Hyphengewebe umgeben sind. P. Wortmanni unterscheidet sich nur von diesem Gymnoascus durch seine typische Penicillium Konidienfruktifikation.

Dasselbe soll auch der Fall mit P. luteum sein. Bei dieser Art gelang es aber Ref. nicht, die Ascus-Bildung hervorzurufen. Zukal hat seiner Zeit, da er die Art beschrieb, ausgesprochen, daß P. luteum an der Seite von Gymnoascus in der Familie der Gymnoasceen einzureihen wäre. Ungefähr derselben Anschauung ist auch van Tieghem in betreff seines P. aureum.

Nach unseren Kenntnissen zu denjenigen Pilzen, welche bisher mit dem Namen Penicillium belegt wurden, wird es wohl das richtigste sein, dieselben in 3 Gattungen zu zerlegen, indem

1) Hedwigia. 1902. p. 80. — Referat in diesem Centralblatt. Bd. IX. 1902. p. 809.

der Name Penicillium nur für eine Konidienform aufgestellt worden ist. P. glaucum muß wegen der der Ascus-Bildung vorausgehenden Sklerotienbildung in eine besondere Gattung gestellt werden; P. luteum, P. aureum und P. Wortmanni bilden eine Gattung für sich und mag vielleicht mit der Gattung Gymnoascus vereinigt werden. Alle übrigen Arten, bei welchen keine Ascus-Fruktifikation bekannt ist, sind zu den Fungi imperfecti hinzuführen und können vielleicht den alten Genusnamen Penicillium beibehalten.

P. Wortmanni wird beschrieben und Abbildungen von den Asken, den Askosporen und ihrer Keimung werden gegeben.

Klöcker (Kopenhagen).

Rothert, Die Sporenentwickelung bei Aphanomyces. (Flora. Bd. XCII. 1903. p. 293—301.)

Die von de Bary zuerst gegebene Darstellung der Entwickelung von Aphanomyces wird durch die Beobachtungen des Verf. im wesentlichen bestätigt und etwas erweitert. Die Sporangien unterscheiden sich anfangs durch nichts, auch nicht durch größeren Plasmareichtum von gewöhnlichen Hyphen; sie sind an der Spitze abgerundet, nicht in einen Fortsatz verschmälert. Die das Sporangium abgrenzende Querwand ist oft im Substrat versteckt, nur bei langgestielten Sporangien ist sie sichtbar. Die Sporenausbildung beginnt mit ringwulstartigen Anhäufungen des Plasmas, dasselbe nimmt zugleich schaumige Beschaffenheit an; bei der Isolierung der Sporenanlagen voneinander und ihrer schließlichen Ausgestaltung zu Sporen bleibt dauernd ein Plasmafaden als Brücke zwischen den Sporen übrig, welcher allerdings oft kaum mehr erkennbar ist, was de Bary veranlaßt hat, zu behaupten, daß derselbe schließlich zerreiße. Dagegen aber spricht die Tatsache, daß die Sporen beim Austritt an beiden Enden spindelartige Gestalt besitzen, was nur denkbar ist, wenn ein Plasmafaden die Sporen dauernd verbindet. Auf die Anwesenheit dieses Plasmafadens, sowie einer zwischen den Sporen befindlichen quellbaren Substanz führt Verf. auch die Erscheinung zurück, daß die austretenden Sporen sich köpfchenförmig am Sporangienende anhäufen. Die Erklärung, welche Hartig für Achlya gibt, diese Anhäufung sei auf eine Anziehung der frei beweglichen Sporen zurückzuführen, trifft für Aphanomyces nicht zu, weil hier die Sporen nicht frei beweglich sind.

Neger (Eisenach).

Maire, R. et Saccardo, P. A., Notes mycologiques. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. p. 220—224. 2 fig.)

Beschrieben werden:

Puccinia Romagnoliana n. sp. auf Blättern von Cyperus longus in Corsica;

Antennaria Unedonis n. sp. auf Blättern und Zweigen von Arbutus Unedo in Corsica;

Phoma Rossiana auf Stengeln von Lupinus albus in Sicilien.

Fusarium lichenicolum parasitisch auf dem Thallus von Candelaria vulgaris in Norditalien.

H. Sydow (Berlin).

Magnus, Paul, Melampsorella Feurichii, eine neue Uredinee auf Asplenium septentrionale. (Berichte d. deutsch. Botan. Ges. Bd. XX. Jahrg. 1902. Heft 10. p. 609 bis 612. Mit 1 Taf.)

Genaue Beschreibung und Abbildung eines von G. Feurich bei Bautzen (sächsische Oberlausitz) gefundenen Pilzes, der in Sydow, Uredineen, unter No. 1550 ausgegeben wurde. Am Mycel wurden keine Haustorien, wohl aber Anheftungsscheiben bemerkt, und die Ernährung des Parasiten vollzieht sich unmittelbar durch die letzterwähnten Gebilde. Teleutosporen wurden nachgewiesen. — Verf. fand auf Asplenium Ruta muraria einen Pilz, den er einstweilen als Uredo murariae n. sp. bezeichnet, und der sich von der Uredo der Melampsorella Feurichii dadurch unterscheidet, daß die Lager von einer kleinzelligen Peridie umgeben sind. Verf. hält es für sehr wahrscheinlich, daß Uredo murariae sowie auch die auf Blechnum boreale, Scolopendrium officinarum und Polypodium vulgare auftretenden Uredo-Lager und auch die Uredo Adianti capilli Veneris (D. C.) zu Melampsorellen gehören. Um diese Ansicht bekräftigen zu können, bittet Verf. Fachgenossen um diesbezügliches Material.

Matouschek (Reichenberg).

Marchal, E., De la spécialisation du parasitisme chez l'Erysiphe graminis. (C. R. Acad. Sc. Paris T. CXXXVI. 1903. p. 1280.)

Die vorliegende Note bringt eine wertvolle Ergänzung zu den früheren Mitteilungen des Verf. (C. R. 21. Juli 1902); sie liefert den Nachweis, daß die Spezialisierung des Parasitismus nicht nur für die Konidien von Erysiphe graminis gilt, sondern auch für die Asco-Sporen. Sporen aus Perithecien, die auf Blättern verschiedener Gramineen herangereift waren, keimten nur auf den der entsprechenden Gattung angehörigen Versuchspflanzen. Es scheint hiernach, daß bei Erysiphe graminis mehrere wohlgetrennte physiologische Rassen voneinander zu unterscheiden sind.

Küster (Halle a. S.).

Costantin et **Lucet,** Sur le Sterigmatocystis pseudo-nigra. (Bull. de la Soc. mycol. de France. T. XIX. 1. p. 33—44.)

Die Bedeutung der pathogenen Arten aus der Gruppe von Aspergillus fumigatus und Sterigmatocystis nigra ist gegenwärtig noch ungenügend bekannt. Das zeigen die historischen Bemerkungen am Eingang der Arbeit. Dennoch steht ganz fest, daß Sterigmatocystis nigra im Ohre wachsen und daselbst beträchtliche Störungen hervorrufen kann.

Der von Costantin und Lucet als eine neue Art beschriebene Pilz ist auf dem Epidermisschorf eines an Sommerräude erkrankten Pferdes gefunden worden. Doch stand er zu der Krankheit nicht in Beziehung. Gegenüber der Sterigmatocystis nigra weist er schwache aber konstante Unterschiede auf. Die Stabilität dieser leichten Anomalie schien zu genügen, um die Schaffung eines neuen Typus zu rechtfertigen. Nach Angabe der Verff. haben wir es hier sogar mit einer kleinen Art (petite espèce)

im Jordanschen Sinne zu tun. Sie schließen sich also dem Jordanschen Kriterium von der erblichen Permanenz und der Unterabteilung der Art oder des Stammes (stirpe) an. Sterigmatocystis pseudonigra unterscheidet sich von St. nigra dadurch, daß sie langsamer und seltener fruktifiziert.

Schließlich sei noch bemerkt, daß die Versuche von intravenöser und subkutaner Inokulation bei beiden Arten vollständig mißlungen sind. Langeron (Paris).

Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze. Versuch einer Gesamtdarstellung ihrer biologischen Verhältnisse. Berlin (Gebr. Bornträger) 1904. Pr. 20 M.

Wohl wenige Zweige der Mykologie haben sich innerhalb des letzten Jahrzehntes in ähnlicher Weise vertieft und erweitert wie die Lehre von den Rostpilzen. Die Literatur über dieses Gebiet ist derartig angewachsen, daß es selbst für den Spezialforscher nicht leicht ist, alles zu übersehen; um so mehr Dank gebührt dem Verf., der, gestützt auf seine reiche Erfahrung, es unternommen hat, unsere heutigen Kenntnisse zusammenzufassen. Es gelingt dies dem Verf. um so leichter, weil ein sehr großer Teil der einschlägigen Untersuchungen von ihm selbst zuerst angestellt worden ist und viele Resultate anderer Forscher von ihm nachgeprüft worden sind.

Das Buch gliedert sich in einen allgemeinen und einen speziellen Teil, die beide ungefähr gleichen Umfang besitzen. Der allgemeine Teil behandelt in 18 Kapiteln das Wissenswerte über Geschichte, Entwickelung, Verbreitung, Spezialisierung etc. der Rostpilze. Naturgemäß konzentriert sich das Interesse der heutigen Forschung auf die Verbreitung der Sporen der wirtswechselnden Arten und auf die Art der Spezialisierung. Diese Verhältnisse sind denn auch mit größter Ausführlichkeit behandelt worden. Es würde hier zu weit führen, den Inhalt dieser Abschnitte näher anzugeben; man findet darin über alle einschlägigen Fragen, sowie über die Spezialliteratur ausreichende Auskunft.

Von besonderem Interesse sind übersichtliche Tafeln, welche über die Heteröcie die Rostpilze und über die Beziehungen der von ein und derselben Art bewohnten Pflanzen Auskunft geben. Daraus erhellt die auf den ersten Blick so befremdliche Tatsache, daß stets nur Phanerogamen ganz entfernt stehender systematischer Gruppen in den Wirtswechsel einbezogen werden, ja daß bestimmte Rostpilzgattungen auch bestimmte Phanerogamengruppen in ihrer Aecidien- und Teleutosporengeneration bewohnen. Das sind gewiß bekannte Dinge, aber die Art, wie sie tabellarisch zusammengestellt sind, erweckt immer von neuem für sie Interesse.

Die große Bedeutung des Buches besteht aber weiterhin darin, daß dadurch die vielen Einzelbeobachtungen, die in den Spezialarbeiten zerstreut sind, unter einem gemeinsamen Gesichtswinkel zusammengefaßt sind. Erst dadurch wird es möglich, die Tragweite so mancher anscheinend belanglosen Beobachtung zu ermessen.

Im speziellen Teile bespricht Verf. den Wirtswechsel der einzelnen Arten. Hierbei geht er nicht bloß auf die Geschichte

der Art, sondern auch auf die Kulturversuche ein, die damit angestellt worden sind. Diese Zusammenstellungen und die daran angeknüpften kritischen Bemerkungen verleihen dem Buche einen hohen Wert als Nachschlagewerk, denn die peinliche Sorgfalt, mit der die einzelnen Arbeiten ausgezogen und zitiert sind, macht für gewöhnliche Zwecke die Spezialliteratur entbehrlich.

Die Ausstellungen, die Ref. zu machen hätte, betreffen weniger den Inhalt des Buches als die Art und Weise der heutigen Rostpilzforschung, wie die Spezialisierung der Rostpilze experimentell erforscht wird, wie dann eine schwerfällige Nomenklatur zur Bezeichnung der gewonnenen Arten verwendet wird u. s. w. Ueber derartige Grundprinzipien aber läßt sich nicht rechten, weil sie auf bestimmten vorgefaßten Anschauungen beruhen, über die niemals eine Einigung zu erzielen sein wird. Mit dem Buche selbst hat das, wie gesagt, nichts zu schaffen.

Ref. kann das Buch mit gutem Gewissen allen denen als ein vorzüglicher Führer und als ein vortreffliches Nachschlagebuch empfehlen, die sich mit dem Studium der Rostpilze eingehender beschäftigen wollen. Lindau (Berlin).

Kellerman, W. A., The alternate form of Aecidium hibisciatum. (Journal. of Mycol. Vol. IX. 1903. p. 109—110.)

Die Kulturversuche des Verf. ergaben, daß Aecidium hibisciatum Schw. und Puccinia Muhlenbergiae Arth. auf Muhlenbergia mexicana in metagenetischem Zusammenhange stehen. H. Sydow (Berlin).

Kellerman, William A., Puccinia lateripes B. et Rav. an Aut-eu-Puccinia. (Journal of Mycologie. 1903. p. 107—109.)

Auf Ruellia strepens (Nordamerika) kommt die oben genannte Puccinia-Art und ein Aecidium vor. Die Zusammengehörigkeit beider bewies Verf. durch Kulturversuche, indem er Sporidien aussäte und durch die so erhaltenen Aecidio-Sporen die Infektion hervorrufen konnte.

Matouschek (Reichenberg i. Böhmen).

Kellerman, W. A., Uredineous infection experiments in 1902. (Journ. of Mycology. 1903. p. 6—13.)

Aus den vorliegenden Infektionsversuchen lassen sich folgende Ergebnisse ableiten:

1) Puccinia atkinsoniana Diet., von Carex lurida stammend, bildete Pykniden und Aecidien auf Sambucus canadensis.

2) Puccinia bolleyana Sacc., von Carex trichocarpa stammend, erzeugte spärliche Pykniden und Aecidien auf Sambucus canadensis.

3) Puccinia peckii (de Toni) Kellerm., von Carex trichocarpa stammend, erzeugte reichliche Pykniden und Aecidien auf Onagra biennis (= Oenothera biennis).

4) Puccinia caricis (Schum.) Reb., von Carex riparia stammend, erzeugte reichliche Aecidien auf Urtica gracilis.

5) Puccinia caricis (Schum.) Reb., von Carex stricta stammend, erzeugte reichliche Aecidien auf Urtica gracilis.

6) Puccinia andropogonis Schw., von Andropogon scoparius stammend, erzeugte Pykniden auf Pentstemon hirsutus.

7) Puccinia windsoriae Schw., von Tricuspis seslerioides stammend, erzeugte reichliche Pykniden und Aecidien auf Ptelea trifoliata. Jacky (Bern).

Kellerman, W. A., Uredineous infection experiments in 1903. (Journal of Mycology. 1903. p. 225—238.) [Zugleich Columbus University Bulletin. Series 8. No. 8.]

Die vom Verf. in der Zeit vom 5. März bis 18. Juni 1903 ausgeführten Impfversuche mit Rostpilzen bilden die erwünschte Fortsetzung seiner früheren diesbezüglichen Arbeiten. Währenddem zahlreiche Versuche ohne Erfolg blieben, gelang es aus über 100 weiteren Versuchsreihen die nachfolgenden Schlüsse zu ziehen, wovon die vier ersten neu sind:

1) Puccinia caulicola Tr. et Gall. auf Salvia lanceolata besitzt eine Aecidiengeneration, die auf ebenderselben Nährpflanze ausgebildet wird; dagegen wurden Pykniden nicht beobachtet. Verf. gibt eine Diagnose dieses neuen Aecidium caulicolum Kellerm.

2) Puccinia hibisciata (Schw.) Kellerm. Mit Teleutosporen, von Mühlenbergia mexicana stammend, konnten erfolgreich geimpft werden: Hibiscus moscheutos und Hibiscus militaris, auf welchen Pflanzen Pykniden und Aecidien erzeugt werden.

3) Puccinia lateripes Berk. et Rav. auf Ruellia strepens ist eine Aut-eu-Form. Teleutosporen von Ruellia strepens stammend und auf diese Nährpflanze gesät, erzeugten hier Pykniden und Aecidien, welch letztere mit dem Namen Aecidium lateripes Kellerm. belegt werden.

4) Puccinia helianthi Schw., von Helianthus mollis stammend, entwickelte Pykniden und Aecidien auf Helianthus mollis und Hel. annuus, wogegen verschiedene andere Helianthus-Arten nicht infiziert werden konnten. Ebenso hatten Versuche mit Teleutosporen von Helianthus annuus, Hel. decapetalus und Hel. ambiguus keinen Erfolg.

Wertvolle Bestätigungen liefern die nachstehenden Versuche:

5) Puccinia angustata Peck, von Scirpus atrovirens stammend, bildet ihre Aecidien (Aecidium Lycopi Ger.) auf Lycopus americanus.

6) Puccinia caricis-erigerontis Arth., von Carex festucacea stammend, bildet ihre Aecidien (Aecidium erigeronatum Schw.) auf Leptilon canadense.

7) Puccinia caricis-solidaginis Arth., von Carex stipata stammend, bildet ihre Aecidien unter anderem auf Solidago canadensis.

8) Puccinia subnitens Diet. Mit Teleutosporen, von Distichlis spicata stammend, wurden Aecidien auf Chenopodium album erzeugt.

9) Puccinia cirsii-lanceolati Schroet., von Cirsium

lanceolatum stammend, bildet Aecidien auf ebenderselben Nährpflanze. Die Pykniden wurden vom Verf. nicht beobachtet. Derselbe glaubt, dieses Entwickelungsstadium noch mit besonderem Namen, Aecidium cirsii-lanceolati Kellerm., belegen zu sollen. Jacky (Bern).

Dietel, P., Uredineae japonicae. IV. (Engl. bot. Jahrb. Bd. XXXII. 1903. p. 624—632.)

In dieser Abhandlung werden folgende neue Uredineen beschrieben:

Uromyces crassivertex auf Lychnis Miqueliana;
Puccinia Asparagi-lucidi auf Asparagus lucidus;
Phragmidium heterosporum auf Rubus trifidus;
Chrysomyxa Menziesiae auf Menziesia pentandra;
Uredinopsis Corchoropsidis auf Corchoropsis crenata;
Pucciniastrum Kusanoi auf Clethra barbinervis;
Aecidium Lilii-cordifolii auf Lilium cordifolium, Ae. Polygoni-cuspidati auf Polygonum cuspidatum, Ae. Cardiandrae auf Cardiandra alternifolia, Ae. Hydrangeae-paniculatae auf Hydrangna paniculata, Ae. Fraxini-Bungeanae auf Fraxinus Bungeana, Ae. Enkianthi auf Enkianthus japonicus.
Roestelia solenoides auf Pirus Aria var. kamaonensis, Uredo Setariae-italicae auf Setaria italica und S. viridis, U. hyalina auf Carex stenantha. H. Sydow (Berlin).

Diedicke, H., Sphärioideen aus Thüringen. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Beibl. p. 165—167.)

Außer bekannten Arten nennt Verf. folgende besonders aus der Umgebung von Erfurt stammende neue Sphärioideen:

Phyllosticta Pleurospermi auf Blättern von Pleurospermum austriacum;
Ph. Ballotae auf Blättern von Ballota nigra;
Ph. Epipactidis auf Blättern von Epipactis violacea;
Ascochyta Solani-nigri auf Blättern von Solanum nigrum;
Septoria Galeobdoli auf Blättern von Galeobdolon luteum;
S. Bupleuri-falcati auf Blättern von Bupleurum falcatum;
Microdiplodia Medicaginis am unteren Teile welk gewordener Pflanzen von Medicago sativa. H. Sydow (Berlin).

Went, F. A. F. C., West-Indien en de Serehziekte. (Herinneringsnummer van de Indische Mercuur. Amsterdam 1903.)

Verf. behauptete früher, daß die Serehkrankheit des Zuckerrohres von der Verticillium-Form der Hypocrea Sacchari hervorgerufen wird. Dies wird jetzt vom Verf. in Abrede gestellt, da er in Westindien und im nördlichen Südamerika die Verticillium-Form auf den Blattscheiden der Kulturpflanze in Menge vorfand, ohne daß in diesen Gegenden jemals die obengenannte Krankheit vorgekommen ist. Matouschek (Reichenberg).

van Hall, C. J. J., Das Faulen der jungen Schößlinge und Rhizome von Iris florentina und Iris germanica, verursacht durch Bacillus omnivorus v. Hall und durch einige andere Bakterienarten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. p. 129—144.)

In einigen holländischen Blumenzüchtereien ist während der letzten Jahre an vorstehend genannten Rhizom-Iris-Arten eine stets sehr rasch verlaufende Krankheit ausgebrochen, bei

welcher einzelne Schößlinge der befallenen Pflanze namentlich an der Blattbasis und zum mindesten der dazu gehörige einjährige Teil des Wurzelstockes, bisweilen auch die älteren Teile des Rhizoms in Fäulnis übergingen. Als Fäulniserreger fand Verf. 3 Bakterien, am meisten Bacillus omnivorus, seltener Pseudomonas Iridis v. Hall und Ps. fluorescens exitiosus v. Hall. Ersterer entwickelt bei allen Fäulniserscheinungen einen charakteristischen widerlichen (muffigen) Geruch, während die durch Pseudomonas verursachten Fäulungsprozesse beinahe geruchlos sind. Wie bei allen virulenten Fäulnisbacillen, besteht die Tätigkeit des Bac. omnivorus im Töten und Isolieren von Zellen und im Aufzehren des nach außen diffundierenden Inhaltes. Der Bacillus erzeugt ein Toxin, das durch Kochen unmittelbar und durch Einwirkung von Chloroform ziemlich schnell vernichtet und durch Alkohol niedergeschlagen wird, während eine sehr kurze Einwirkung von Chloroform oder eine Behandlung mit Alkohol im stande ist, die Bakterien zu töten, ohne das Toxikum gänzlich zu vernichten.

Infektionsversuche des Verf. wiesen nach, daß außer den jungen Rhizomen der Iris-Arten junge Radieschen, junge Mohrrüben, Blumenkohl, junge Zwiebel- und Cichorientriebe gegen Bac. omnivorus gleich empfindlich sind; Gurken zeigten sich resistenter, Tomaten und junge Kartoffeltriebe immun. Dieselben Resultate lieferten Infektionsversuche mit Pseudomonas. In der Jugend sind die Organe der befallenen Pflanzen gegen die Bakterienwirkung stets viel empfindlicher als im späteren Alter. Da außerdem die Kulturbedingungen der einzelnen Pflanze von großem Einfluß auf den Grad der Empfindlichkeit zu sein scheinen, ist anzunehmen, daß die genannten Bakterien von Haus aus wahrscheinlich Saprophyten und im vorliegenden Falle nur als Gelegenheitsparasiten aufgetreten sind. Beck (Tharandt).

Bubák, Franz, Die Feldmaus als Schädling des Getreides und der Zuckerrübe. (Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. 1902. Heft 2. 7 p.)

In den letzten Jahren trat dieser Nager in vielen Gegenden Böhmens massenhaft auf, und zwar oft plötzlich. Das plötzliche Auftreten ist zu erklären 1) durch die außerordentliche Fruchtbarkeit dieser Tiere; 2) durch das Ueberwiegen der Weibchen gegenüber den Männchen. Den Winter überdauern aber nur ausgewachsene und gesunde Individuen. Warum diese Nager doch nicht jedes Jahr in so riesiger Masse auftreten, das ist abhängig 1) von der genügenden Menge oder dem Mangel an Nahrung, 2) von der Witterung, 3) davon, in welcher Menge ihre natürlichen Feinde auftreten. Zum Glück dezimiert die Natur die Reihen dieser Schädlinge im Frühjahr durch plötzliche Fröste, durch die natürlichen Feinde, durch Mangel an Nahrung gegen den Herbst, durch den Wabengrind (Favus), hervorgerufen durch den Pilz Achorion Schönleinii Remak, durch Typhus und durch Läuse und Erdflöhe. Die größte Vermehrung der Feldmäuse fällt in die Erntezeit. Sind das Getreide und die Hülsenfrüchte eingeheimst,

dann bleiben den Feldmäusen noch die saftigen Knollenfrüchte. Sie erhalten aber da Durchfall und gehen massenhaft zu Grunde. Für den Winter legen sie kleinere Vorräte an. Mittel zur Vertilgung der Feldmäuse sind: 1) Schonen jener Tiere, die natürliche Feinde der Mäuse sind, 2) Vertilgung der Tiere im Frühjahr, 3) Bearbeitung des Bodens mit Walzen oder Stachelwalzen, 4) Ausgraben von Gräben und Löchern, in welche die Tiere hereinfallen, 5) Erschlagen der Tiere beim Getreideschnitt, 6) Gifte (Arsenoxyd, Sublimat, Phosphor und Strichnin, aber auch mit Schwefelkohlenstoff) und 7) durch den Loefflerschen Mäusetyphusbacillus. Alle diese Vertilgungsmittel werden genau erläutert.

Matouschek (Reichenberg).

Delacroix, G., Sur un chancre du Pommier produit par le Sphaeropsis malorum Peck. (Travaux de la Station de Pathologie végétale. Bull. de la Soc. mycol. de France. T. XIX. 2. 1903. p. 132—140 avec 1 pl. et 2 fig. dans le texte.)

Die durch diese Pyknidenform verursachte Krankheit ist in Amerika ziemlich verbreitet und zeigt sich auch bereits in Frankreich, wo sie in der Champagne, im Departement Maine et Loire und in Paris aufgetreten ist. Aeußerlich betrachtet könnte man sie für einen durch Nectria ditissima verursachten Krebs halten, doch findet man keine konzentrischen Wülste (bourrelets) der gesunden Rinde. Die Fruktifikationen sind sehr zahlreich und in Form von Pykniden. Der obere Teil des erkrankten Zweiges kann vertrocknen, doch oft bildet sich unter der Ulceration ein querer Wulst der gesunden Rinde, wodurch die Ausdehnung des Parasiten gehemmt wird. Dem Charakter der Konzeptakeln (Perithecien) und der Sporen nach scheint sich diese Art dem Genus Botryodiplodia zu nähern, aber der Mangel an Vergleichungsmaterial hat die Aufklärung dieses Punktes nicht gestattet. Jedenfalls ist die von Paddock und Stewart versuchte und auf der Färbung der Sporen basierende Unterscheidung zwischen Sphaeropsis malorum Peck. und Macrophoma malorum Berl. und Vogl. nicht begründet, da sowohl die braunen wie die hyalinen Sporen die experimentelle Infektion hervorrufen konnten. Ebenso könnte die von Stewart in einem ähnlichen Krebsfalle gefundene Cytospora nur eine Pyknosporenform des Sphaeropsis sein gleich derjenigen, welche der Verf. bei einem erkrankten Individuum beobachtet hat.

Das Mycelium von Sphaeropsis dringt in Rinde und Holz ein. Die Sporen keimen leicht in destilliertem Wasser. Konidien kommen nur selten vor. Die Infektionsversuche sind nur beim Apfelbaum und dann nur an verwundeten Teilen desselben gelungen; auf den Blättern sind sie stets mißglückt. Die Behandlung muß sich zunächst darauf richten, die Bäume vor Rissen zu bewahren und zwar indem man sie mit einer Mischung aus 30 Teilen Kalk, 4 Teilen Talg und 5 Teilen Seesalz bestreicht. Die angegriffenen Teile müssen entfernt und verbrannt und die Wunde mit 5-prozentigem Kupfersulfat behandelt werden. Die durch Insekten, namentlich durch die Cochenillen verursachten Wunden,

könnten die Infektion begünstigen. — Eine kurze, sieben Nummern umfassende Bibliographie ist der Arbeit beigefügt.

Langeron (Paris).

Schleyer, Das Schwarzwerden des Meerrettichs. (Praktische Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. 1903. p. 138.)

Die Krankheit, durch welche der Meerrettich direkt unverkäuflich wird, äußert sich dadurch, daß der Kern der Hauptwurzel Ende Juli anfängt sich gelbbraun zu färben. Später geht diese Färbung in grau über und im letzten Stadium zeigt sich der ganze Querschnitt der Wurzel schwarzbraun. Auch die Blätter werden gelb und sterben ab. Die vielfach angenommenen Ursachen der Krankheit, daß die Felder durch fortgesetzten Anbau von Meerrettich auf ein und derselben Fläche „krenmüdig" geworden sind, ist nicht stichhaltig; auch eine Infektionskrankheit kann nicht angenommen werden, da auftretende Pilze nur eine sekundäre Erscheinung darstellen. Die Ursache liegt dagegen in erster Linie in der Bodenbeschaffenheit, und zwar in der Anwesenheit eines hohen Gehaltes von Eisenoxydul und Eisenhydroxyd und in der vollständigen Abwesenheit des kohlensauren Kalkes. Zur Bekämpfung der Krankheit wurden Versuche in der Weise eingeleitet, daß die Felder im Herbst tief umgepflügt wurden und durch den Untergrundpflug entweder kohlensaurer Kalk, gemahlener Aetzkalk oder Kalkhydrat möglichst tief untergepflügt wurde. Durch diese Operationen ist zu hoffen, daß die schädlichen Eisenverbindungen unschädlich gemacht werden und zugleich der Boden von Kalk angereichert wird. In einigen Bezirken Bayerns haben die durchschnittlichen Verluste bis jetzt ca. 10 Proz. betragen; im Jahre 1903 sind diese Verluste auf das Doppelte gestiegen, so daß Verf. einen durch diese Krankheit verursachten Geldverlust von mindestens 40—50000 M. herausrechnet.

Stift (Wien).

Saccardo, P. A., Una malattia crittogamica nei frutti di mandarino: Alternaria tenuis forma chalaroides Sacc. (Giornale d. Viticultura ed Enologia. 1903. p. 135.)

Verf. beobachtete auf dem Epikarp von neapolitanischen Mandarinen schwärzliche Flecken, die sich mit der Zeit immer mehr verbreiteten. Die Schale war innerlich an diesen Orten von einem grauweißen Mycel überzogen und das Fleisch war dort schwärzlich-braun, obwohl der Geschmack nur wenig gelitten hatte. Die neue Krankheit wurde nun vom Verf. näher studiert. Das Mycel bietet nichts Besonderes, nur sind die Zellen mit Oeltropfen überfüllt. Interessant ist die endogene Konidienbildung, d. h. die Konidien entstehen zu 2—3 im Innern der Endzellen. Ref. glaubt, diese Art Sporenbildung sei durch unzureichenden Luftzutritt im Innern der Früchte hervorgerufen und gibt an, daß in einem späteren Stadium überhaupt kein Conidium mehr ausgegliedert wird, während die Hyphen brüchig werden und bei dem Abbruch die Oeltropfen leicht herauspressen. Stücke aus dem befallenen Epikarp, in feuchte Petri-Schale gebracht, überzogen sich in 24 Stunden mit oliv-braunen Rasen, die nach kurzer Zeit Koni-

dien von Alternaria tenuis lieferten. Verf. kann bemerken, daß nach eigener Beobachtung intracellulare Konidienbildung und Ansammlung von ölartigen Proteïnkörnern in den Vakuolen bei jedem Schimmelpilz nicht selten Hunger- oder Alterszeichen sind; endogene Konidienbildung wurde neuerdings auch von Vuillemin und Guilliermond für Botrytis cinerea beschrieben. Ob dieselbe daher ein gutes systematisches Merkmal sei, bleibt dahingestellt. Pantanelli (Zürich).

Peglion, V., Di una speciale infezione crittogamica dei semi di erba medica e trifoglio. (Stazioni sperimentali agrarie. vol. XXXVI. 1903. p. 198.)

In den Sämereien von Luzerne und Klee begegnet man immer braunen, verdorbenen Samen, die, anstatt zu keimen, rasch verfaulen. Der Grund dafür ist, daß die Samenschale von Alternaria tenuis befallen ist, deren Hyphen durch die Luftschicht bis in die Quellschicht und oft bis in die Keimblätter hineinragen. Werden solche „harte" Samen äußerlich sterilisiert und in den Brutschrank bei 15—16° gestellt, so erscheint nach 24 Stunden ein zuerst weißer, dann graubrauner Ueberzug mit zahlreichen Sporenketten; später wird das Mycel knöterig und der Kern dieser Knoten wird allmählich resorbiert, so daß hohle Fruchtkörper entstehen, deren innere Fläche Asci und septierte Paraphysen ausgliedert. Nach 15—20 Tagen hat sich diese Entwickelung vollzogen und ist es nunmehr leicht, die Perithecien von Pleospora Alternariae Griff. et Gib. zu erkennen. Pantanelli (Zürich).

Malenković, Basilius, Zur Hausschwammfrage. (Centralbl. f. d. gesamte Forstwesen. Jg. XXXIX. 1903. p. 281—296.)

Davon ausgehend, daß für das Mycel des Hausschwammes Luftzug und Tod identisch ist, tritt Verf. der Ansicht entgegen, daß die Infektion gesunden Holzes in der Hauptsache durch das Mycel erfolge, und sucht mit einer Kritik der von den verschiedenen Autoren und Beobachtern angeführten Argumente für Mycelinfektion nachzuweisen, daß Infektion durch Sporen die Regel bildet. Unter den von R. Hartig (v. Tubeuf) als Ursache der Sporenkeimung angegebenen alkalischen Stoffen: Urin, Ammonkarbonat, Ammonphosphat und Kaliumkarbonat läßt Verf. höchstens letzteres, am wenigstens Urin, gelten. Daß Hausschwamm oft in der Nähe von Aborten auftritt, bestätigt sich nicht. Als Keimungsbedingung kommt vielmehr vermutlich in erster Linie das aus der Kalkmilch entstehende Calciumbikarbonat $CaH_2(CO_3)_2$, ein bisher im festen Zustande nicht isolierter, nicht ätzender, wasserlöslicher Körper von alkalischer Reaktion, in Betracht. Dieser Stoff kommt bei jedem Baue, insbesondere aber immer nächst der Mauer, unbedingt vor. Außerdem muß angenommen werden, daß die Sporen unter bestimmten (nicht bekannten) Verhältnissen und ausnahmsweise auch auf Holz ohne jede Zutat keimen können. Als weitere Keimungsbedingungen sind Abhaltung aller das Wachstum von Schimmelpilzen fördernder Stoffe und vermutlich Lichtmangel anzusehen.

Die bisher üblichen Methoden zur Zucht des Hausschwamm-mycels in Holzproben sind nur Notbehelfe, da es nicht gelingt, einen bestimmten Feuchtigkeitsgehalt dauernd aufrecht zu erhalten. Für exakte Zuchtversuche empfiehlt Verf. eine von ihm skizzierte Art von Thermostat oder beim Fehlen einer solchen Vorrichtung die Zuhilfenahme eines möglichst abgelegenen Kellerraumes. Von weiterer Prüfung auf lebendes Mycel können Holzproben ruhig ausgeschaltet werden, sofern 4 Wochen nach dem Aussetzen derselben in Kulturgefäßen bezw. geeigneten Kellerräumen noch kein Mycel auf der Oberfläche erschienen ist.

Die hypothetischen Betrachtungen über den Schutz infizierten Holzes vor dem Ausbruche des Hausschwammes bieten nichts Neues und kommen auf die bekannte Tatsache zu, daß ein trocknes, von der Mauer isoliertes, nicht angestrichenes, dem Luftzuge ausgesetztes Holzstück unmöglich Wucherungen des Hausschwamm-mycels enthalten kann. Bei Unterstellung der Annahme, daß in gewissen Gegenden jede Holzpartie durch Sporen des Merulius infiziert ist, hat die gegenwärtige Hausschwammforschung nicht die Erkennung erst einzubauenden infizierten Holzes anzustreben, sondern vielmehr die Ermittelung der Keimungsbedingungen der Sporen und die Feststellung aller jener chemischen (antiseptischen) und bautechnischen Maßnahmen, welche Keimen der Sporen und Wachstum des Mycels zu verhindern im stande sind.

Beck (Tharandt).

Malenkovic, B., Mit der Sporenkeimung zusammenhängende Versuche mit Hausschwamm. (Naturw. Ztschr. für Land- und Forstwirtschaft. Bd. II. 1904. p. 100—109 u. 160—163.)

Die Gestalt der Hausschwammsporen wird vielfach unrichtig beschrieben; dieselben sind länglich und schalenförmig vertieft, und zwar ist die Vorderwand (die äußere Wand bei der Stellung auf der Basidie) konvex, die Rückenwand stark konkav, die Seitenwände konvex. Im Plasma des Sporeninhalts finden sich 1—5 helle kugelrunde Stellen — nach Verf. nicht Oeltropfen, sondern wahrscheinlich Vakuolen.

Reinkulturen des Pilzes zeigten, daß sogenannte bevorzugte Nährstoffe nicht existieren. Nur Ammoniumphosphat bewirkt eine auffallende Förderung der Sporenkeimung, doch ist unentschieden, ob dieses Salz als Nähr- oder als Reizmittel wirkt.

Die Sporenkeimung wird verhindert durch Gegenwart von Bakterien und Schimmelpilzen, gleichviel, welche Natur der Nährboden habe. Für die Keimung ist der beste Nährboden derjenige, auf welchem das Mycel am besten wächst. Dagegen ist das Alter der Sporen im allgemeinen gleichgültig. Optimum für das Mycelwachstum ist 22° C (für die Sporenkeimung nach Möller 25° C). Trockenheit hält die Sporen lange keimfähig, Feuchtigkeit dagegen ist schädlich, weil sie die Entwickelung von schädlichen Organismen befördert. Daß die Sporen auf saurem Substrat besser keimen als auf alkalisch reagierendem, ist wohl darauf zurückzuführen, daß auf ersteren Bakterien nicht oder nur schlecht gedeihen.

Holz ist den künstlichen Nährböden gegenüber ein schlechter Nährboden; es hat nur den einen Vorteil, daß darauf Bakterien schlecht, und zwar schlechter als der Hausschwamm wachsen. So erklärt es sich, daß der Hausschwamm auf Holz die Konkurrenz von Bakterien siegreich überwindet. Neger (Eisenach).

Hennings, P., Ueber die in Gebäuden auftretenden wichtigsten holzbewohnenden Schwämme. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. p. 178—191.)

Verf. gibt eine Aufzählung der in Gebäuden auftretenden wichtigeren Schwämme, welche eine Zerstörung des Bauholzes bewirken. Die hierher gehörigen Arten werden zum Teil kurz charakterisiert und ihr Vorkommen in Gebäuden besprochen. Da die Arbeit wesentlich nichts Neues enthält, können wir uns auf die Angabe der vom Verf. aufgeführten Arten beschränken, nämlich Corticium giganteum, Coniophora cerebella, Merulius lacrymans (erhielt Verf. auch aus Tokyo), M. hydnoides, M. aureus, Polyporus vaporarius, Lenzites sepiaria, Lentinus squamosus, Paxillus acheruntius, Coprinus radians, Armillaria mellea etc.

H. Sydow (Berlin).

Hennings, P., Battareopsis Artini n. g., sowie andere von Prof. Dr. G. Schweinfurth in Aegypten 1901—1902 gesammelte Pilze. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 210. Mit Fig.)

Außer einer Anzahl bekannter Arten behandelt die Arbeit auch viele neue. Entyloma Schweinfurthii P. Henn. auf Blättern von Polypogon monspeliensis, Uromyces cynosuroides P. Henn. auf Bl. von Eragrostis cynosuroides, N. trigonellae occultae P. Henn. auf Bl. von Trigonella occulta, Uredo danthoniae P. Henn. auf Bl. von Danthonia Forskalii, Hypomyces galericola P. Henn. auf den Hüten von Galera rubiginoa.

Besonders interessant ist die neue Gattung Battareopsis, die zu den Secotiaceen gehört. Die einzige hierher gehörige Art, B. Artini P. Henn., fand sich unter dem asphaltierten Fußboden eines Wohnhauses, den sie durch ihr Wachstum auf 1 m im Quadrat aufsprengte. Lindau (Berlin).

Ludwig, F., Zwei neue Pflanzenschädlinge unserer Gewächshäuser und Gärten. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. XIII. 1903. p. 210.)

Mit Pflanzen ist aus Japan eine kleine Heuschrecke, Diestrammena unicolor, eingeführt worden, die sich an mehreren Stellen Thüringens, in Dresden, Kiel und anderen Orten in den Gewächshäusern auffallend bemerkbar macht. Anfangs hat das Tier keinen Schaden angerichtet, jetzt wird aber die Kultur von Pyrethrum dadurch stark gefährdet. Andere Pflanzen wurden bisher nicht beschädigt.

Auch die ägyptische Heuschrecke, Acridium tartaricum, wurde mehrfach mit Frühgemüse eingeschleppt.

Während früher die Amsel als nützlicher Vogel angesehen

wurde, hat sich diese Meinung allmählich geändert, seitdem die Amsel sich mehr und mehr in die Städte zurückzieht. Sie verübt nicht bloß Nesträubereien bei anderen Singvögeln, sondern richtet auch an Obst- und Zierpflanzen Schaden an. Verf. führt mehrere Fälle dieser Art an. Lindau (Berlin).

Ritzema Bos, Drei bis jetzt unbekannte, von Tylenchus devastatrix verursachte Pflanzenkrankheiten. (Zeitschrift f. Pflanzenkr. XIII. 1903. p. 193.)

In Holland trat an mehreren Stellen eine Erkrankung der Erbsenpflanzen auf, die vom Verf. auf Tylenchus devastatrix zurückgeführt werden konnte. Die Pflanzen waren klein geblieben und meist nicht zur Blütenbildung gekommen. Die Stengel waren kurz, dicker als gewöhnlich und an mehreren Stellen leicht zerbrechlich, ferner zeigten sie Verkrümmungen und starke Verästelung. Die Aeste blieben meist kurz, die Blätter waren klein, wellig verbogen und etwas dicker als bei normalen Pflanzen. Bisher waren die Aelchen in Erbsen nicht bekannt.

Auch eine Erkrankung des Flachses durch dieselben Aelchen wurde festgestellt. Der Stengel ist an der Basis verbogen, wächst aber später normal weiter fort. Die Krankheit ist nicht sehr gefährlich.

In Blättern von Anemone japonica wurde ebenfalls Tylenchus nachgewiesen, der hier scharf begrenzte, braune Flecken verursacht. Aehnliche Flecken auf Cystopteris werden von Aphelenchus olesistus erzeugt. Lindau (Berlin).

Kunstler, J. und **Chaine, J.,** Kiefferia musae — nov. gen., nov. spec. — Cécidomyide nouvelle. (Soc. scientifique d'Arcachon, station biologique. T. VI. 1903. p. 113—118.)

Dieser kleine Zweiflügler ist auf fruchttragenden Zweigen der Banane gefunden worden. Seine Larven nähren sich von den Teilen, die in Fäulnis übergehen. Er muß als Typus eines neuen Genus angesehen werden, das eine Uebergangsform zwischen den Unterarten der Heteropezinen und der Lestreminen darstellt. Die beiden ersten Unterarten der Cecidomyiden, die Cecidomyinen und die Lestreminen, besitzen in der Tat fünfgliedrige Tarsi; die Tarsi von Kiefferia musae haben hingegen nur zwei Glieder. Die Einzelheiten der Flügelnerven erlauben auch nicht, Kiefferia den Heteropezinen anzureihen. Dieses Tier weist zwei Formen auf, eine normale und eine anormale. Letztere weicht vom gewöhnlichen Typus nur durch die Atrophie der Flügel ab. Es ist dies der dritte bekannte Fall von Dimorphismus bei den Cecidomyiden.

Langeron (Paris).

Enderlein, G., Micropsocus musae (Kunstler et Chaine), eine vermeintliche Gallmücke (Kiefferia musae n. g. n. sp. Kunstler et Chaine). 1902. (Zool. Jahrb. Abt. f. System. Bd. XIX. 1903. p. 288—292. Mit 1 Abb.)

Verf. weist, ohne das fragliche, als Cecidomyide beschriebene Tier gesehen zu haben, an der Hand der Originalbeschreibung und -Abbildung nach, daß es sich überhaupt nicht um ein Dipter, sondern um einen Kopeognathen handelt, wie die bisher als Prociden bekannte Ordnung der pterygoten Insekten nach früheren

Untersuchungen E. zu heißen hat. Anlaß dazu gibt der Bau des Kopfes, vor allem das Fehlen eines Rüssels, die Bildung der Tarsen und des Flügelgeäders nebst Borstenbesatz. Auch deutet die Form des Hinterrandes der Flügel zwingend darauf hin, daß es sich um ein in Wahrheit vierflügeliges Insekt handelt. Wenn die französischen Autoren noch einen Fall von „Dimorphismus mit atrophischen Flügeln" beschrieben haben, so ist in diesem nichts anderes als eine weibliche Nymphe zu finden, während die „normale Form" ein entwickeltes Männchen darstellen dürfte. Somit wird auch die vermeintliche Entdeckung eines Bindegliedes zwischen den Unterfamilien der Lestreminae und Heteropezinae hinfällig, und sogar der Gattungsname Kiefferia darf als bereits vergeben — once a synonym, always a synonym — nicht bestehen, sondern hat dem Namen der schon 1901 von Enderlein beschriebenen Gattung Micropsocus zu weichen.

Jacobi (Tharandt).

Boden, Beschädigung der jungen Kiefernkulturen durch wurzelbrütende Hylesinen im akademischen Lehrrevier Freienwalde a. O. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw. Jahrg. XXXV. 1903. p. 551—554.)

Die Mitteilungen über den Fraß der wurzelbrütenden Hylastes-Arten an Kiefernpflanzen bringen im Grunde nichts Neues, man müßte denn die Einbeziehung des Hylurgus ligniperda unter die ersteren, echten Schädlinge so auffassen, freilich dann auch nähere Beweisangaben fordern. Dagegen sind die Ergebnisse des Auslegens von Fangknüppeln durch ihre imposanten Zahlenangaben sehr beachtenswert. Es kam nämlich in einer Revierfläche von 1500 ha bei einem Gesamtfange von 2800000 Stück auf den Knüppel die hohe Durchschnittszahl von 333 eingesammelten Käfern. Gleichzeitig wurden die Fanggräben revidiert und in diesen wie an den Knüppeln noch 36500 Hylobius abietis vernichtet. Im zweitfolgenden Jahre (1901) wurden in demselben Zeitraume, außer zahllosen Larven, nur noch 1564000 Käfer (= 200 auf den Knüppel) und 42000 Hylobius gezählt. Die Vernichtung dieser Mengen wurde für die erwähnte Revierfläche mit dem geringen Kostenaufwande von 600 M. im Jahre erreicht, wobei noch in Betracht kommt, daß die geschälten und aufgesetzten Fangknüppel, die für Bäcker sehr brauchbar sind, jedesmal bedeutend über die Taxe bezahlt wurden. Das ganze Ergebnis ermutigte zu der an und für sich bedenklichen Maßregel, alle Schlagflächen des Schutzbezirkes noch in demselben Jahre zu kultivieren — in Rücksicht nämlich auf die Trockenheit des dortigen sehr armen Sandbodens. Jacobi (Tharandt).

Baer, W., Beobachtungen über Lyda hypotrophica Htg., Nematus abietinus Chr. und Grapholitha tedella Cl. (Tharander forstl. Jahrbuch. Bd. LIII. 1903. p. 171—208. Taf. I—IV.)

Als Mitteilungen aus dem Zoologischen Institute der Königl. Forstakademie Tharandt teilt Verf. Beobachtungen der letzten Jahre über den Fraß der Fichtengespinnstblattwespe auf dem Nassauer Revier, der kleinen Fichtenblattwespe auf dem Naunhofer

Revier bei Leipzig, sowie des Fichten-Nestwicklers in den meisten sächsischen Staatsforstrevieren mit. Die Entwickelung der ersten Art dürfte zwischen 1895 und 1900 unter zwei- und dreijährigem Ueberliegen der Larven vor sich gegangen sein, in letzterem Jahre schien sich ein stärkerer Fraß vorzubereiten, da der Quadratmeter Bodenfläche in verschiedenen Revierabteilungen Durchschnittszahlen an Larven von 114 bis 279 Stück enthielt. Unter diesen war die gelbe Form wieder in dem schon bekannten Verhältnis von 13 Proz. enthalten und gehörte ebenso wie die grünen unterschiedslos beiden Geschlechtern an. Die Geschlechtsunterschiede im Puppenstadium werden beschrieben und abgebildet, ferner über die Eiablage genaue und interessante Beobachtungen mitgeteilt. Danach sitzen die Eier in Gelegen von 4 bis 12 auf vorjährigen Nadeln in Ringform angebracht. Zum Ablegen der Eier krümmt das Weibchen den flachen Hinterleib durch Umbiegen seines Hinterendes nach unten außerordentlich stark, drückt zunächst eine schwarze Schmiere hervor, um damit die zur Ablage gewählte Nadel längere Zeit einzureiben, und ritzt schließlich vor dem Austreten des Eies die Nadel gerade unter diesem auf etwa 0,1 mm an. In diese Ritze senkt sich ein kleiner Beutel an der gebuchteten Seite des Eies so fest ein, daß dieses dadurch seinen einzigen Halt an der Nadel findet und nicht ohne Durchreißen jener Verlängerung loszulösen ist. Hinsichtlich der altbekannten Volumenzunahme der Blattwespeneier nach der Ablage weist Verf. die Annahme eines Eintritts von Nährstoffen aus der Nadel in das Ei als unhaltbar zurück, läßt dagegen die Möglichkeit einer Wasseraufnahme aus der Umgebung gelten.

Als Abwehrmaßregel hatte man 1902 in den besonders bedrohten Abteilungen die Stämme in Brusthöhe geleimt, doch zeigten sich bei Probefällungen auch deren Wipfel mit Eiern belegt, wenngleich spärlicher als die der ungeleimten. Dagegen zeigten sich um Mitte August große Mengen von Schlupfwespen (Polycinetis aethiops Grav.), welche die fast erwachsenen Lydalarven angriffen. — Verf. berührt dann noch die Frage der Artverschiedenheit der Fichtenlyden hauptsächlich auf Grund der von Borries in Dänemark und einiger von ihm selbst bei Tharandt gemachten Erfahrungen.

Nematus abietinus Chr. (abietum Htg.), eine in Sachsen weit verbreitete, aber allgemein nur als wenig schädlich empfundene Blattwespe, hat auf dem Naunhofer Revier durch ihren seit 1895 bemerkten Fraß die sämtlichen Fichtenbestände der 2. und 3. Altersklasse auf nicht weniger als 424 ha allmählich so ernstlich geschädigt, daß der Ertrag dieser Flächen kaum weniger in Frage gestellt wird als es bei Insektenfraß von raschtötender Wirkung der Fall sein könnte. Die Folgen zeigen sich nicht nur in der Wipfeldürre zahlreicher Stämme, sodaß seit 1898 die Abgabe von Christbäumen eingestellt werden mußte, sondern auch im Absterben von Bäumen. Der Uebergang dazu macht sich in den mannigfaltigsten Wipfelmißbildungen bemerkbar, die schon die künftige Verwendung des Stammes als Nutzholz verhindern. Außer den sogenannten „Bajonettstangen“ sind es namentlich Wucherungen der Präventivknospen am Grunde eingegangener Triebe zu dicken,

fleischigen Ersatztrieben mit eigentümlichen kurzen, breiten und flachen Nadeln, die eine schopfartige Bildung des Wipfels ergeben. Ueber die Eiablage der kleinen Fichtenblattwespe konnte Verf. ebenfalls Beobachtungen anstellen, wonach das Ei in einem 1 mm langen Schlitz an der Außenkante der Nadel untergebracht wird, so daß es infolge des Zurückweichens der Seitenwandungen des ersteren wie in einer offenen Tasche daliegt.

Den Schluß dieses Kapitels bilden Auseinandersetzungen über die Unterschiede der Imagines und des Larvenfraßes bei den vier Nematiden der Fichte.

Seit 1897 waren die sächsischen Waldungen, soweit die Fichte vorherrscht, Schauplatz eines fast zusammenhängenden und heftigen Fraßes von Grapholitha tedella Cl., der allerdings die schlechtwüchsigen Bäume und Gruppen durchgehends bevorzugte, sonst auch die Bestände 10—45-jährigen Alters und zwar hauptsächlich Dickungen und Stangenhölzer befiel. Im übrigen schützte kein Lebensalter die Fichte vor dem Fraße. In den Verlauf der Kalamität griff eine Mykose wirkungsvoll ein, deren Erreger Entomophthora radicans Bref. des Kohlweißlings war. Beachtenswerterweise war im Vorjahre in der Umgebung des Cunnersdorfer Revieres, wo man die Entomophthoren zuerst auffand, auch der letztere Falter sehr stark aufgetreten. Die Hoffnungen auf ein Erlöschen des Tedella-Fraßes, die man an jene Erscheinung knüpfte und die zur künstlichen Uebertragung infizierter Streu in andere Reviere veranlaßt hatten, erfüllten sich zunächst nicht, denn 1899 war allenfalls in Cunnersdorf (und Thun) ein verringertes Schwärmen bemerkbar, anderwärts dagegen eher ein stärkeres. Wenn dennoch auf den starken Falterflug überall nur ein unbedeutender Fraß folgte, so muß wohl angenommen werden, daß zu Anfang der Fraßperiode die Raupen massenweise umgekommen sind; Ursache hierfür mag neben ungünstiger Wirkung und unbekannten Veranlassungen wenigstens teilweise das Eingreifen von Entomophthora radicans gewesen sein. Alle anderen Abwehrmaßregeln waren teils im großen nicht durchzuführen, teils unwirksam gewesen. Trotzdem war der verursachte Schaden nicht so bedeutend, wie man nach dem gradezu trostlosen Anblick der befressenen Bestände im Spätherbste befürchtet hatte. Dies lag einerseits an der feuchten Witterung des Frühjahrs 1899 nach voraufgegangenem milden Winter, andererseits daran, daß im allgemeinen kein Bestand zweimal hintereinander stärker befressen wurde. Fast schwerwiegender als die Schäden aus dem Fraße von G. tedella waren die von ihren Begleiterinnen G. pactolana und Argyresthia illuminatella Ill. Namentlich ging das Absterben von Wipfeln in Kulturen und Dickungen stets auf die Zerstörung der saftleitenden Rindenschichten durch G. pactolana zurück. Jacobi (Tharandt).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Magerstein, Vinz. Th., Das Wesen des Dr. Büchelerschen Verfahrens zur Herstellung einer 24-stündigen

Kunsthefe ohne Milchsäuregärung. (Oesterreichische Brennerei-Zeitung. Jahrg. II. 1904. No. 5.)

Verf. bespricht das Büchelersche Verfahren und seine Vorzüge gegenüber dem bisher überwiegend angewendeten Pilzsäureverfahren. Der für die Hefeentwickelung erforderliche organische Aciditätsgrad (Säuregrad) wird nach diesem (dem Bücherlerschen) Verfahren im Hefegut ebenso rasch als sicher und in der gewünschten Stärke dadurch erhalten, daß man der Hefemaische eine entsprechende Menge einer Mineralsäure (Schwefelsäure oder Phosphorsäure) gleich nach erfolgter Verzuckerung zusetzt. Die Säure zersetzt die in der Maische vorhandenen organischen Salze, bleibt also nur kurze Zeit in freiem Zustande und vereinigt sich dann sofort mit den frei gemachten Basen der organischen Salze zu Mineralsalzen. Durch dieses einfache Verfahren wird ein reines organisch-saures Gärsubstrat geschaffen, die Entwickelung hefefeindlicher Bakterien unterdrückt und außerdem werden günstige Bedingungen zu einem proteolytischen Abbau des hochmolekularen und nicht diffusiblen Eiweißes in leicht assimilierbare Spaltungsprodukte gegeben.

Vorzüge des neuen Verfahrens sind: Einfachheit, gepaart mit Sicherheit, wobei der Brauer Ersparnis an Zeit, Arbeit und Kohlen macht. Ferner bleibt die schadenbringende Mauke bei den Tieren aus, welche mit Schlempe gefüttert werden, die aus nach diesem Verfahren behandelten Maischen erhalten wird. Ferner entfällt eine Reihe bei der Milchsäurehefe erforderlicher Maßnahmen und der reine Gärungsverlauf in der Kunsthefe gibt Anwartschaft auf einen gleichmäßigen und sicheren Betrieb der Brennerei bei erhöhter Alkoholausbeute. Da bei der richtigen Handhabung des Säurezusatzes keine freie Schwefelsäure in der Hefemaische auftritt, so werden die Metallteile der Werksvorrichtungen bei diesem Verfahren auch nicht angegriffen. Kausch (Charlottenburg).

Bellei, G., Intorno ad una speciale reazione del latte, (Giornale della Società Italiana di Igiene. Vol. XXVI. 1904. p. 52—56.)

Sauls (1903) und Carstairs (1903) Wasserstoffsuperoxydprobe auf gekochte Milch wird von Verff. in folgender Weise ausgeführt: 10 ccm Milch werden mit 3 Tropfen der 1,5-proz. Ortollösung und 2 Tropfen der Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. — Die Reaktion kann auch zur Aufsuchung von Formaldehyd in der Milch dienen.

Außerdem findet Verf., daß auch in gekochter, mit Kulturen verschiedener pathogener und zymogener Bakterien, ferner mit Hefen u. s. w. geimpfter Milch diese Reaktion nicht gelingt. Nur nach der Verunreinigung mit Bacillus pyocyaneus β und B. icteroides war ein positives Resultat zu verzeichnen, aber erst nach 30" trat die rote Farbe auf, die in frischer Milch schon in 1—2" erscheint. Verf. führt dieses Verhalten auf die Zerstörung der Enzyme beim Abkochen zurück. Pantanelli (Modena).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Alliot et **Gimel**, De l'action des oxydants sur la pureté des fermentations industrielles. (Comptes rendus de l'académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 911.)

Sowohl aërobe wie anaërobe Mikroorganismen treten zuweilen bei den industriellen Fermentationen schädigend auf. Aber nur die anaëroben haben, was schädlichen Einfluß betrifft, praktische Bedeutung, da die Entwickelung der aëroben eine so langsame ist, daß in allen Fällen die Fermentation zu Ende ist, ehe sie ihren schädlichen Einfluß ausüben können.

Die Verff. beschäftigten sich nun mit der Einwirkung von Oxydationsmitteln auf die Fermente der Buttersäure- und Milchsäuregärung und mit dem Einfluß, welchen diese Körper (durch Unterdrückung der Anaëroben) auf die Reinheit der Fermente und somit auf den einheitlichen Verlauf des Gärungsvorganges haben.

Geprüft wurden Natriumhypochlorid ClONa, Calciumhypochlorid $CaCl_2O_2$, Eisenchlorid Fe_2Cl_6, chlorsaures Kali ClO_3K, Kaliumperchlorat ClO_4K, Kaliumbichromat $K_2Cr_2O_7$, Mangansuperoxyd MnO_2 und Wasserstoffsuperoxyd H_2O_2. Auf je 1 l angesäuerte Bierwürze kamen 10 ccm Bakterienreinkultur und in verschiedenen Versuchsreihen 0,2, 0,5 und 1 g des Oxydationsmittels. Der Verlauf der Gärung wurde mikroskopisch und acidimetrisch verfolgt.

Die Resultate eines Gärversuchs mit Buttersäureferment unter Zusatz von 1 g Oxydationsmittel pro Liter waren folgende:

Bezeichnung der Kolben	Säure auf H_2SO_4 berechnet im Liter nach 2 Tagen der Gärung g	nach 4 Tagen der Gärung g
No. 0 Kontrolle	1,5	2,7
„ 1 ClONa	1,3	1,9
„ 2 Cl_2O_2Ca	1,2	1,8
„ 3 Fe_2Cl_6	1,7	2,5
„ 4 ClO_3K	1,5	2,15
„ 5 ClO_4K	1,35	2,00
„ 6 K_2CrO_7	1,8	2,6
„ 7 MnO_2	1,25	1,8
„ 8 H_2O_2	1,2	1,7

Da praktisch das Wasserstoffsuperoxyd, das sich als am meisten bakterizid erwiesen hat, nicht in Betracht kommt, so verdient also wohl $CaCl_2O_2$ und MnO_2 den Vorzug. Man muß aber außerdem berücksichtigen, daß außer der schädigenden Wirkung auf die schädlichen Mikroben den Oxydationsmitteln die Eigenschaft zukommt, das Wachstum der Hefe mächtig zu befördern. Dadurch kann offenbar ihr Gärungsvermögen und folglich die Ausbeute an Alkohol ungünstig beeinflußt werden, wenn die Oxydationsmittel im gesamten Verlauf der Gärung wirken. Deswegen empfehlen die Verf. die Anwendung von Oxydationsmitteln nur bei Hefen, um die Gärung einzuleiten, wodurch folgende Vorteile erzielt werden:

1) bakterizide Wirkung;
2) beschleunigte Zellteilung der Hefe;
3) das Verschwinden von eventuell in der Maische enthaltener SO_2, in freier Form oder als SO_3KH.

Koeppen (Hannover).

Rostowzew, S. J., Beiträge zur Kenntnis der Peronosporeen. (Flora. Bd. XCII. 1903. p. 405—430.)

Auf den Gurkenfeldern des Gouvernements Twer trat als Neuheit nicht nur für Rußland, sondern für ganz Europa ein falscher Mehltaupilz schädlich auf, der, nach den Konidien zu urteilen, zur Gattung Plasmospora gehört, nach der Verzweigungsart der Konidienträger aber zwischen die typischen Vertreter der Gattung Peronospora zu stellen ist. Da er eine Mittelstellung zwischen den beiden genannten Gattungen einnimmt, und ebenso wie der verwandte amerikanische, von Berkeley und Curtis 1868 aufgefundene Pilz Peronospora Cubensis die Eigentümlichkeiten beider Gattungen in sich vereinigt, nennt ihn Verf. Pseudoperonospora Cubensis (Berk. et Curt.) Twieriensis. Aeußerlich kennzeichnet sich die Krankheit durch Auftreten von verschieden großen, gelbbraunen, mit violett-rauchfarbigem Schimmel bedeckten Flecken auf beiden Seiten der Blätter. Der haarige. spinngewebe-, sogar sammetartige Ueberzug wird von den namentlich auf der Blattunterseite hervortretenden Konidienträgern gebildet. Das befallene Blatt beginnt zu faulen oder einzutrocknen und stirbt vom Rande herein allmählich zur Mitte und zum Blattstiel vorschreitend ab. Die Gurken gehen infolgedessen ein und geben keine Früchte. Beim Vorhandensein geeigneter Bedingungen: genügender Wärme und Feuchtigkeit, ist der Krankheitsverlauf ein sehr schneller. Die Uebertragung der Krankheit erfolgt durch die ihre vollständige Entwickelung ziemlich spät, und zwar erst in ganz abgestorbenen und abgefallenen Blättern erreichenden und im Boden überwinternden Oosporen. Beck (Tharandt).

Mokrzecki, S. A., Ueber die Anwendung des Chlorbaryum gegen schädliche Insekten in Gärten und auf Feldern. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. XIII. 1903. p. 209.)

Gegen Raupen wendet Verf. das Bespritzen mit einer $1^1/_2$ bis 3-proz. Lösung von Chlorbaryum an, der auf 100 l $^1/_4$ Pfund Soda zugesetzt werden. Die Flüssigkeit wirkt vorzüglich und tötet die Raupen schon nach 4—5 Stunden ab. Allerdings ist die Anwendung etwas teurer als Pariser Grün und die Lösung ist giftiger, namentlich für das Weidevieh. Diese Nachteile werden aber durch die schnelle Wirksamkeit wieder ausgeglichen. Verf. empfiehlt das Mittel auch gegen Heuschrecken. Lindau (Berlin).

Schultz, Zur Frage der Unkrautvertilgung. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIII. 1903. p. 213.)

Verf. hat verschiedene Lösungen zur Vertilgung von Ackersenf und Hederich angewendet. Dabei zeigte sich, daß 15-proz. Eisenvitriollösung überlegen ist sowohl einer 20-proz. Lösung von schwefelsaurem Ammon als auch der Mischung von 5 Teilen Eisenvitriol und 15 Teilen schwefelsaurem Ammon auf 100 Teile Wasser.

Lindau (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
Prof. Dr. Otto Hamann,
Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Bubák, Fr., Bericht über die Tätigkeit der Station für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz an der königl. landwirtschaftlichen Akademie in Tábor (Böhmen) im Jahre 1903. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 4. p. 353—355.)

Das Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation Berlin auf der Internationalen Ausstellung für Spiritusverwertung und Gärungsgewerbe, Wien 1904. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 20. p. 286 288.)

Hollrung, H., Bericht der Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten in Halle a. S. über die während des Jahres 1903 in Mitteldeutschland beobachteten Krankheiten der Zuckerrüben. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zuckerindusfrie. Lief. 579. 1904. p. 465—470.)

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. V: Das Jahr 1902. Berlin (Parey) 1904. 15 M.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearb. u. hrsgegeb. v. P. von Baumgarten u. F. Tangl. Jg. XVIII. 1902. Abt. I. Leipzig (Hirzel) 1904. 368 p. 8°. 10 M.

Justs Botanischer Jahresbericht. Hrsg. v. K. Schumann. Jg. XXXI. (1903). Abt. I. Heft 1. Pilze. Leipzig (Bornträger) 1904. 160 p. 8°.

Kwisda, A., Fortschritte der Gärungschemie im Jahre 1903. (Oesterr. Chemiker-Ztg. Jg. VII. 1904. N. 8. p. 177—180.)

Marchal, Ém., Rapport sur les observations effectuées par le service phytopathologique de l'institut agricole de l'état en 1903. (Bull. de l'agricult. Bruxelles. T. XX. 1904. Livr. 1. p. 44—55.)

Poskin, Rapport sur les observations effectuées par le service entomologique de l'institut agricole de l'état en 1903. (Bull. de l'agricult. Bruxelles. T. XX. 1904. Livr. 1. p. 56—66.)

Wehmer, C., Die Bakteriologie im Jahre 1903. (Chemiker-Ztg. Jg. XXVIII. 1904. N. 32. p. 381—387.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bodin, E. et **Castex, E.**, Appareil pour l'agitation continue des cultures. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 4. p. 264—266. 1 Fig.)

Eine neue Baumspritze. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 17. p. 167—168. 3 Fig.)

Ficker, M. und **Hoffmann, W.**, Weiteres über den Nachweis von Typhusbacillen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 3. p. 229—273.)

Käsewurm, Neue Trichinenschaumikroskope. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 8. p. 269—271. 4 Fig.)

Kausch, Die aus der Patentlitteratur bekannten Formaldehydentwickler. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1904. N. 22/23. p. 673—703. 36 Fig.)

Konrádi, Daniel, Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 1. p. 151—160.)

Kronacher, Transportabler Sterilisationsapparat für Verbandstoffe und Instrumente. (Münch. med. Wchnschr. Jg. LI. 1904. N. 19. p. 841—842. 1 Fig.)

Leitz, E., Die neue Binoculare-Lupe. (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chem. Bd. IX. 1904. Heft 10. p. 291—293.)

Marpmann, G., Ueber das Wachstum der Bakterien bei verändertem Druck. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. IX. 1904. Heft 11. p. 293—297. 4 Fig.)

Mereshkowsky, S. S., Ein Apparat zum Erhalten von Wasserstoffgas auf elektrolytischem Wege mit automatischer Regulierung des Druckes des ausströmenden Gases. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 796—800. 1 Fig.)

Metalnikoff, S., Sur un procédé nouveau pour faire des coupes microscopiques dans les animaux pourvus d'un tégument chitineux épais. (Arch. de zool. expér. et gén. Sér. 4. T. II. 1904. N. 4. p. 66—67.)

Nothen, Heinrich, Beiträge zur bakteriologischen Prüfung von Desinfektionsmitteln. Diss. med. Bonn 1904. 8°.

Obstbaumspritze für Petroleumemulsion. (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 18. p. 139.)

Prior, E., Die Anwendung der Hefe als Reagens in der Nahrungsmittelchemie. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie. Bd. IX. 1904. Heft 12. p. 313—322.)

Schwackhöfer, W., Ein neues Gärbottichventil. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 18. p. 316—317.)

Triollet, Dispositif pour stériliser le catgut à l'auctoclave. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 4. p. 267—268. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bailey, E. H., Distribution of parasites. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 3. p. 141—144.)

Bancroft, Thos. L., Some further observations on the life-history of Filaria immitis Leidy. (British med. journ. 1904. N. 2258. p. 822—823. 2 Fig.)

Beauverie, J., Étude sur le champignon des maisons (Merulius lacrymans) Destructeur des bois de charpentes. (Ann. de la soc. Linnéenne de Lyon. T. L. Année 1903. ersch. 1904. p. 1—62. 8 Fig.)

Berestneff, N., Ueber das Leucocytozoon Danilewskyi. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1904. Heft 3. p. 376—386. 1 Taf.)

Berlese, Augusto Napoleone, Saggio di una monografia delle peronosporacee. (Contn.) (Riv. di patol. veget. Vol. X. 1901—1902. ersch. 1904. N. 5—12. Fig. 22—69.)

Berlese, Amedeo, Le mosche e la diffusione dei microorganismi. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 4. p. 186—192.)

Beijerinck, M. W., Phénomènes de réduction produits par les microbes. (Arch. Néerland. d. sc. exactes et nat. Sér. 2. T. IX. 1904. Livr. 1/2. p. 131—157.)

Bernard, Noël, Le champignon endophyte des Orchidées. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 13. p. 828—830.)

Bezzenberger, Ernst, Ueber Infusorien aus asiatischen Anuren. Diss. med. Königsberg. 1904. 8°.

Billet, A., A propos de l'Hémogrégarine de l'Emyde lépreuse (Emys leprosa) de l'Afrique du Nord). (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 13. p. 601—603. 8 Fig.)

Brumpt, E., Sur une nouvelle espèce de Mouche Tsé-tsé, la Glossina Decorsei n. sp., provénant de l'Afrique centrale. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 13. p. 628—630.)

—, La Filaria loa Guyot, est la forme adulte de la microfilaire désignée sous le nom de Filaria diurna Manson. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 13. p. 630—632.)

Cao, Giuseppe, Sulla resistenza degli anaërobi patogeni del terreno. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 4. p. 169—177.)

Cholodkovsky, N., Aphidologische Mitteilungen. (Zool. Anz. Bd. XXVII. N. 15. p. 476—479. 1 Fig.)

Die Dasselplage des Rindviehs und ihre Bekämpfung. Dasselfliegen-Merkblatt. Bearb. i. K. Gesundheitsamte. Berlin (Springer) 1904. 3 p. 5 Fig. 5 M.

Desmots, Henri, Production de l'acétylméthylcarbinol par les bactéries du groupe du B. mesentericus. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCV. Sér. 6. T. XIX. 1904. N. 8. p. 381—384.)

Dupuy, J., Navires et moustiques (Stegomyia fasciata). (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVI. 1904. N. 4. p. 284—301.)

Ducloux, L., Sur une hémogrégarine de Emys leprosa. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 12. p. 564—565.)

Eckardt, H., Ueber die bakteriologischen Vorgänge im Bracheboden. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 4. p. 55—57.)

Filatoff, B. D., Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der Bombyx mori L. und der Periplaneta orientalis L. bei artifizieller Infektion derselben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 748—762.)

Fuhrmann, O., Ein getrenntgeschlechtlicher Cestode. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XX. 1904. Heft 1. p. 131—148. 1 Taf.)

George, Hector, Le ténia du chien et la santé des agneaux. (Journ. d'agricult. prat. Année LXVIII. 1904. N. 17. 561—562.)

Giesenhagen, K., Sorica Dusenii n. gen. und n. sp., ein im Farnsorus lebender Astomycet. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 3. p. 191—196. 1 Taf.)

Gordan, Paul, Bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung von Kleien nach ihrer Neigung zur Schimmelbildung (Keimkastenmethode). (D. landwirtsch. Versuchs-Stationen. Bd. LX. 1904. Heft 1/2. p. 73—102.)

—, Bakteriologische Untersuchungen zur Beurteilung von Kleien nach ihrer Neigung zur Schimmelbildung (Keimkastenmethode). (D. landw. Versuchs-Stat. Bd. LX. 1904. Heft 1/2. p. 73—91.)

Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen duich niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 1/3. p. 43—78.)

Henneberg, W., Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. [Forts.] (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. N. 16. p. 160—161.)

—, Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen. (Forts.) (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 17. p. 172; N. 18. p. 182—183.)

—, Einfluß verschiedener Milchsäurebacillenarten und einer Essigsäurebakterienart auf die Gärung der Hefe in Getreidemaische. (Schädliche Milchsäurebacillen.) (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 18. p. 241—245.)

—, Lebensdauer einiger Kulturheferassen (Frohberg, Saaz, Rasse II und Rasse XII) im feuchten Zustand bei niedrigen Wärmegraden und Einfluß verschiedener Organismen auf diese Hefen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 19. p. 260—263; N. 20. p. 288—290.)

Hölling, Adolf, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum Streptococcus lanceolatus (Pneumoniecoccus, Enterococcus u. s. w.). Diss. med. Bonn 1904. 8°.

Hollrung, M., Sphaeronema Betae nov. spec. (Ber. d. Dtschn bot. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 3. p. 199—202. 5 Fig.)

—, Wie können die mit Rübenerde in den Schlammteich gelangenden Nematoden sicher vernichtet werden? (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 7. p. 108—110.)

Iwanoff, Leonid, Ueber das Verhalten der Eiweißstoffe bei der alkoholischen Gärung. [Vorl. Mitt.] (Ber. d. Dtschn bot. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 3. p. 203—206.)

Jordi, Ernst, Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen bewohnenden Uromyces-Arten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 763—795. 37 Fig.)

Klebahn, H., Wirtswechselnde Rostpilze. (Mitt. d. Dtschn Landw.-Ges. Jg. XIX. 1904. Stück 18. p. 118—120.)

Koning, C. J., Contributions à la connaissance de la vie des champignons humicoles et des phénomènes chimiques qui constituent l'humification. (Arch. Néerland. d. sc. exactes et nat. Ser. 2. T. IX. 1904. Livr. 1/2. p. 34—107.)

Kornauth, Karl, Ueber die Bekämpfung tierischer landwirtschaftlicher Schädlinge mit Hilfe von Mikroorganismen. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 4. p. 365—387.)

Kulwieč, Kazimierz, Pasorzyty owadów. (Wszechświat, Warszawa. T. XXII. 1903. p. 213—217, 246—249. [Parasiten der Insekten].)

Laveran, A. et **Mesnil, F.**, Sur un Trypanosome d'Afrique, pathogène pour les Équidés, Fr. dimorphon Dutton et Todd. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 12. p. 732—737. 7 Fig.)

Léger, Louis, Sur la structure et les affinités des Trypanoplasmes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 14. p. 856—859. 5 Fig.)

—, Sur la morphologie du Trypanoplasma des Vairons. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 13. p. 824—825.)

—, La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1904. Heft 3. p. 303—357. 2 Taf. u. 8 Fig.)

—, Sporozoaires parasites de l'Embia Solieri Rambur. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1904. Heft 3. p. 358—366. 7 Fig.)

Lindner, P., Der Nachweis von Bierhefe in Preßhefe mittels der biologischen Analyse und die Einführung eines bestimmten Hefentypus in die Preßhefenfabrikation. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVII. 1904. N. 16. p. 156. 2 Fig.)

—, Der Nachweis von Bierhefe in Preßhefe mittels der biologischen Analyse und die Einführung eines bestimmten Hefentypus in der Preßhefenfabrikation. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 18. p. 237—239. 2 Fig,)

Loewenthal, Waldemar, Das Auftreten eines mikronukleusartigen Gebildes bei Opalina ranarum. [Vorl. Mitt.] (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1904. Heft 3. p. 387—390. 10 Fig.)

Maliniak, J., O wiciowcach (flagellata) w zawartości żołądka. (Medyc. Warszawa. T. XXXI. 1903. p. 479—483. [Ueber die Flagellaten im Magen.])

Massee, George, On the origin of parasitism in fungi. (Ann. of Bot. Vol. XVIII. 1904. N. 70. p. 319—320.)

Miyake, H., Beiträge zur Kenntnis des Bothriocephalus liguloides. (Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. Bd. XIII. 1904. Heft 2. p. 145—154. 2 Fig.)

Nathan, Leopold, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 1/3. p. 93—94.)

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. N. 1/3. p. 1—32. 3 Taf.)

Nicolle, Charles, Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 4. p. 209—240.)

—, Sur une Hémogrégarine karyolysante de Gongylus ocellatus. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 13. p. 608—609.)

Nikitinsky, Jakob, Ueber die Beeinflussung der Entwickelung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XL. 1904. Heft 1. p. 1—93.)

Omelianski, W., Die histologischen und chemischen Veränderungen der Leinstengel unter Einwirkung der Mikroben der Pektin- und Cellulosegärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. N. 1/3. p. 33—43. 1 Taf.)

Panse, Otto, Trypanosoma Theileri (?) in Deutsch-Ostafrika. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 3. p. 376—378. 1 Fig.)

Remy, Neue Untersuchungen über die Knöllchenbakterien der Hülsenfrüchte. (Der Landbote. Jg. XXV. 1904. N. 30. p. 366—368.)

Rubner, Max, Die Umsetzungswärme bei der Alkoholgärung. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 3. p. 355—418.)

Schittenhelm, A. und **Schröter, F.,** Ueber die Spaltung der Hefenukleïnsäure durch Bakterien. 4. Mitt. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLI. 1904. Heft 4. p. 284—292.)

Schroeder, Max, Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselprodukte des Bac. lact. aërogenes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 732—733.)

Schuberg, August und **Schröder, Olaw,** Myenchus bothryophorus, ein in den Muskelzellen von Nephelis schmarotzender neuer Nematode. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVI. 1904. Heft 4. p. 509—521. 1 Taf.)

Sievers, R., Om förekomsten af Taenia solium (Cysticercus cellulosae) ad andra plattmaskar i Finland. (Finska läkaresällsk. Handl. Bd. XLV. 1903. N. 12. p. 595—602.)

Smith, Theobald and **Johnson, Herbert P.,** On a Coccidium (Klossiella muris, gen. et spec. nov.) parasitic in the renal epithelium of the mouse. (Journ. of exper. med. Baltimore. Vol. VI. 1904. N. 3. p. 303—316. 3 Taf.)

Stafford, J., Trematodes from Canadian fishes. (Zool. Anz. Bd. XXVII. 1904. N. 16/17. p. 481—495.)

Ståhlström, Axel, Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung steriler und in Gärung befindlicher organischer Stoffe auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Tricalciumphosphats. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 724—732.)

Stebbing, E. P., On the Life-History of a new Monophlebus from India, with a note on that of a Vedalia predaceous upon it. With a few remarks on the Monophlebinae of the Indian Region. (Journ. of the Linneau soc. Vol. XXIX. N. 189. p. 142—161. 3 Taf.)

Tiraboschi, Carlo, Les rats, les souris et leurs parasites cutanés dans leurs rapports avec la propagation de la peste bubonique. (Arch. de parasitol. T. VIII. 1904. N. 2. p. 161—349. 72 Fig.)

Vibrans, Wie tief soll man pflügen, um sich die Tätigkeit der Bodenbakterien nutzbar zu machen? (Mitt. d. Dtschn. Landw.-Ges. Jg. XIX. 1904. Stück 17. p. 113—116.)

Weigert, Richard, Ueber das Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden. Ein Beitrag zur Frage der natürlichen Immunität. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 1. p. 112.)

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. (8. Nachtrag.) (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 16. p. 269—271.)

Zschokke, F., Die Darmcestoden der amerikanischen Beuteltiere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 1. p. 51—62. 1 Taf.)

Zur Hausschwammfrage. (Neue forstl. Blätter. Jg. XIV. 1904. N. 11. p. 81—82; N. 12. p. 89—90; N. 13. p. 97—99; N. 14. p. 105—107.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Bissell, William, G., The bacterial examination of 104 samples of water: together with a detailed study of the colon bacillus. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXVII. 1904. N. 5. p. 841—847.)

Duclaux, E., Études d'hydrographie souterraine. (Schluß.) (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 4. p. 268—272.)

Gaucher, Louis, Sur quelques bactéries chromogènes isolées d'une eau de source. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 721—723. 1 Taf.)

Hagemann, Die approximative chemische Wasseruntersuchung. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 9. p. 261—273.)

Klostermann, M., Ueber die Beurteilung von Natureis. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VII. 1904. Heft 9. p. 546—549.)

Le Couppey de la Forest, Sur la construction, la conduite et la surveillance rationnelles des filtres à sable et sur les qualités hygiéniques des eaux produites par de pareils filtres aux Etats-Unis d'Amérique. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVI. 1904. N. 4. p. 343—376.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Borax und Borsäure als Arznei- und Konservierungsmittel. (Dtsche Nahrungsmittel-Rundsch. Jg. II. 1904. N. 8. p. 81.)

Franke, J. H., Die Verfälschung und Vergiftung der Nahrungs- und Genußmittel. Gemeinverst. Belehrungen auf d. Grundlage d. allg. gültigen Nährsalz-Theorie. St. Ludwig 1904. 24 p. 8°. —,50 M.

Milch, Molkerei.

Anbrunner, J., Produktion von einwandfreier Kuhmilch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIV. 1904. N. 19. p. 219—220.)

Berchoud, Quelques réflexions sur le lait humanisé, système du Professeur Backhaus. (Lyon méd. Année XXXVI. 1904. N. 17. p. 821—830.)

Boekhout, F. W. J. und **de Vries, J. J. Ott**, Ueber die Blähung im Edamer Käse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 1/3. p. 89—93. 1 Taf.)

Gorini, C., Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 1/3. p. 78—81. 1 Taf.)

Gouin, R., Le mouillage des beurres et les antiseptiques. (Journ. de l'agricult. prat. Année LXVIII. 1904. N. 14. p. 447—448.)

Heine, H., Butter und Butterverfälschung. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 19. p. 262—294.)

Jacqué, L., A propos de l'agent de la fermentation butyrique (unbeweglicher Buttersäurebacillus) décrit par Schattenfroh et Grassberger). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 1. p. 28—33. 1 Fig.)

Marshall, Charles E., A preliminary note on the associative action of bacteria in the souring of milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 739—744.)

Moussu, G., Le lait des vaches tuberculeuses. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 13. p. 617—619.)

Rodella, A., Einige Bemerkungen zu dem Aufsatze von Dr. Ed. Freudenreich, Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere anaërobe Arten bei Hartkäsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 24 25. p. 744—747.)

—, Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Buttersäurebacillen für den Reifungsprozeß der Hartkäse. IV. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. N. 1/3. p. 82—89.)

Rogers, Lore A., Studies upon the Keeping quality of butter. 1. Canned butter. (U. St. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. N. 57. 1904. 24 p.)

Thiele, R., Die Vorgänge bei der Zersetzung und Gerinnung der Milch. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektkrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 3. p. 394—406.)

Utz, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. 1904. N. 24/25. p. 733—739.)

Fleisch.

Oberndorfer, S., Hygiene und volkswirtschaftliche Bedeutung des Fleisches. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspfl. Bd. XXXVI. 1904. Heft 3. p. 311—361.)

Reuter, Martin, Katechismus der Schlachtvieh- und Fleischbeschau. Eine Anleitung zur Abhaltung und zum Bestehen der Fleischbeschauerprüfung nach dem Reichsgesetz betr. die Schlachtvieh- u. Fleischbeschau. Mitherausgeb. v. Konrad Rogner. Ansbach (Brügel u. Sohn) 1904. VIII, 179 p. 8°. 1,50 M.

Schmitt, A., Einiges über die forensische Bedeutung der Haare für die Fleischbeschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 8. p. 260—262. 2 Fig.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les phénomènes chimiques du collage. (Le Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 28. p. 109—110.)

Goldschmidt, Fritz, Der Wein, von der Rebe bis zum Konsum, nebst einer Beschreibung der Weine aller Länder. 3. verb. u. verm. Aufl. Mainz (Diemer) 1904. XI, 556 p. 7 Taf. u. 387 Fig. 10 M.

Guénaux, G., L'altération de la couleur des vins rouges. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 34. p. 134.)

—, Le vin et les fluorures. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 36. p. 142.)

Mazé, P. et **Pacottet, P.**, Recherches sur les ferments de maladies des vins. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 4. p. 245—263. 1 Taf.)

Ravaz, L., Recherches sur la brunissure de la Vigne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 16. p. 1056—1058.)

Renaud, J., Les colles à vin. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 33. p. 129—130.)

Sannino, F. A., La gresse en couronne sur la vigne. (La vigne américaine. Macon. Année XXVIII. 1904. N. 4. p. 105—108.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Bonhoff, H., Ueber einige neuere Untersuchungen auf dem Gebiete der Formaldehyddesinfektion. (Berl. klin. Wchnschr. Jg. XLI. 1904. N. 19. p. 489—492.)

Gantz, Mieczyslaw, O dezynfekcyi wogóle i o przymusowem odkażanin. (Zdrowie. Warszawa. T. XIX. 1903. p. 676—685.) (Ueber Desinfektion im Allgemeinen und über die obligatorische Desinfektion.)

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1904. N. 18/19. p. 545—554. 7 Fig.)

Kister und **Trautmann**, Ueber Versuche mit Formaldehydwasserdampf nach dem Verfahren v. Esmarchs. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVI. 1904. Heft 3. p. 379—393.)

Korzon, Tadeusz, O dezynfekcyi para, wodną. (Zdrowie. Warszawa. T. XIX. 1903. p. 685—694.) (Desinfektion durch Wasserdampf.)

Köttgen und **Steinhaus**, Ueber Reinigung von Schulzimmern und Anwendung staubbindender Fußbodenöle. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege. Jg. XXIII. 1904. Heft 3/4. p. 117—136.)

Kröhnke, O. und **Biltz, W.**, Ueber organische Kolloide aus städtischen Abwässern und deren Zustandsaffinität. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 9. p. 401—409.)

Kühlmann, Eugen, Räucherungen der Stadt Colmar mit Teer und Versuche mit neuen Mitteln. (Weinbau und Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 19. p. 184.)

Lindner, Paul, Ueber einige Mißbräuche in der Anwendung von Desinfektionsmitteln. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 19. p. 256—257.)

Romeick, Das Desinfektionswesen in ländlichen Ortschaften. Ref. erstatt. i. d. Medizinalbeamtenversammlg. i. Königsberg. i. Pr. a. 14. XII. 1903. Leipzig (Leineweber) 1904. 14 p. 8°. —,70 M.

Stadel, Franz, Die Verbreitung des Schmutzes in den Wohnungen. Diss. med. Straßburg. 1904. 8°.

Tonzig, C., Bedeutung der Farbe in der desinfizierenden Wirkung der Lacke. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 4. p. 336—354.)

Ury, Hans, Ueber den quantitativen Nachweis von Fäulnis- und Gärungsprodukten in den Fäzes. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXX. 1904. N. 18. p. 700—703.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Baccarini, P., Sul ceratostoma juniperum Ell. et Ever. (Nuovo Giorn. Bot. Ital. Vol. XI. 1904. N. 1. p. 49—52.)

Bekämpfung der Reblaus durch die autonomen Landesbehörden in Oesterreich. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 17. p. 166—167; N. 18. p. 176—177.)

Bergner, Ein neues Schutzmittel gegen Rüsselkäfer. (Neue forstl. Blätter. Jg. XIV. 1904. N. 13. p. 100—101.)

Blunno, A., A sketch of the position of viticulture in Europe with respect to Phylloxera. (Agric. Gaz. of New-South-Wales. Vol. XV. 1904. P. 3. p. 250—256.)

Bordas, F., Sur la maladie de la tache jaune des chênes-lièges. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 15. p. 928—929.)

Braun, K., Die Kupfervitriolkalkbrühe (Bordeauxbrühe) und ihre Anwendung. Stuttgart (Ulmer) 1904. 4 p. = 4. Flugblatt d. k. württemb. Anst. f. Pflanzenschutz in Hohenheim.)

Fuchs, Gilbert, Etwas über primäre Borkenkäferangriffe. (Naturwiss. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 4/5. p. 193—198.)

Inhalt.

Referate.

Baer, W., Beobachtungen über Lyda hypotrophica Htg., Nematus abietinus Chr. und Grapholitha tedella Cl., p. 515.

v. Baur-Breitenfeld, K., Enzyme und Fermente, p. 470.

Bersteyn, P., Ueber einige in den Kulturen zur Reinzüchtung der Nitratbildner regelmäßig auftretende Bakterienarten, p. 493.

Bleisch, C. und **Regensburger, P.,** Wie weit wird der Endvergärungsgrad von Maischtemperatur und Maischverfahren beeinflußt, p. 479.

Boden, Beschädigung der jungen Kiefernkulturen durch wurzelbrütende Hylesinen im akademischen Lehrrevier Freienwalde a. O., p. 515.

Bokorny, Th., Ueber die Fruchtätherbildung bei der alkoholischen Gärung, p. 480.

—, Ueber das verschiedene Gäraroma, je nach den Gärungsbedingungen, p. 482.

—, Einige Beobachtungen über Essigbildung, p. 484.

Bouilhac et **Giustiniani,** Sur des cultures de diverses plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries, p. 500.

Braun, R., Reinzucht aus Faßgeläger, p. 475.

Bubák, Franz, Die Feldmaus als Schädling des Getreides und der Zuckerrübe, p. 508.

Buchner, Eduard und **Meisenheimer, Jakob,** Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung, p. 474.

Buhlert, Die Lebensbedingungen der Salpeterbakterien, p. 494.

Cannon, M. J., Invertase, p. 472.

Costantin et **Lucet,** Sur le Sterigmatocystis pseudo-nigra, p. 503.

Coupin, Sur l'assimilation des alcools et des aldéhydes pour le Sterigmatocystis nigra, p. 486.

Davis, B. F. und **Ling, A. R.,** Einwirkung der Malzdiastase auf Kartoffelstärkekleister, p. 474.

Delacroix, G., Sur un chancre du Pommier produit par le Sphaeropsis malorum Peck., p. 509.

Diedicke, H., Sphärioideen aus Thüringen, p. 507.

Dietel, P., Uredineae japonicae, p. 507.

Enderlein, G., Micropsocus musae (Kunstler et Chaine), eine vermeintliche Gallmücke (Kiefferia musae n. g., n. sp. Kunstler et Chaine. 1902, p. 514.

Gerlach, Die Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffes, p. 495.

Guilliermond, A., Recherches cytologiques sur les levures, p. 476.

—, Contribution à l'étude des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des champignons, p. 477.

—, Recherches sur la germination des spores dans le Saccharomyces Ludwigii (Hansen), p. 478.

van Hall, C. J. J., Das Faulen der jungen Schößlinge und Rhizome von Iris florentina und Iris germanica, verursacht durch Bacillus omnivorus v. Hall und durch einige andere Bakterienarten, p. 507.

Harold, Johnson, The enzymes, p. 471.

Hennings, P., Battareopsis Artini n. g., sowie andere von Prof. Dr. G. Schweinfurt in Aegypten 1901—1902 gesammelte Pilze, p. 513.

—, Ueber die in Gebäuden auftretenden wichtigsten holzbewohnenden Schwämme, p. 513.

Hiltner, L., Bericht über die Ergebgebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin), p. 497.

Hinsberg und **Roos,** Ueber einige Bestandteile der Hefe, p. 478.

Kellerman, W. A., The alternate form of Aecidium hibisciatum, p. 505.
—, Puccinia lateripes B. et Rav. an Aut-eu-Puccinia, p. 505.
—, Uredineous infection experiments in 1902, p. 505.
—, Uredineous infection experiments in 1903, p. 506.
Kienitz-Gerloff, Bakterien und Hefen, insbesondere in ihren Beziehungen zur Haus- und Landwirtschaft, zu den Gewerben, sowie zur Gesundheitspflege, p. 465.
Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze. p. 504.
Klöcker, A., Sur la classification du genre Penicillium, et description d'une espèce nouvelle formant des asques, p. 501.
Kunstler, J. und **Chaine, J.**, Kiefferia musae — nov. gen., nov. spec., p. 514.
Laborde, Les ferments de la maladie du vin poussé ou tourné, p. 488.
Lewandowsky, Felix, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration, p. 467.
Lott, Zersetzung von Salicylsäurelösungen durch Schimmelpilze, p. 501.
Ludwig, F., Zwei neue Pflanzenschädlinge unserer Gewächshäuser, p. 513.
Magnus, Paul, Melampsorella Feurichii, eine neue Uredinee auf Asplenium septentrionale, p. 503.
Maire, R. et **Saccardo, P. A.**, Notes mycologiques, p. 502.
Malenkovic, Basilius, Zur Hausschwammfrage, p. 511.
—, Mit der Sporenkeimung zusammenhängende Versuche mit Hausschwamm, p. 512.
Marchal, E., De la spécialisation du parasitisme chez l'Erysiphe graminis, p. 503.
Naumann-Wender, Die Hefekatalase, p. 473.
Nilson, A., Die Ursache des Wachstums der Gerste, p. 500.
Oppenheimer, Carl, Angebliche Stickstoffgärung durch Fäulnisbakterien, p. 492.
Osterwalder, A., Beiträge zur Morphologie einiger Saccharomyceten-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweinhefen, p. 486.
Papenhausen, H., Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung bei den Bakterien, p. 466.
Peglion, V., Di una speciale infezione crittogamica dei semi di erba medica e trifoglio, p. 511.
Rayman, Bohuslav et **Kruis, Karel**, Études chimiques et biologiques. Partie III, p. 469.
Remy, Stickstoffbindung durch Leguminosen, p. 498.
Ritzema Bos, Drei bis jetzt unbekannte, von Tylenchus devastatrix verursachte Pflanzenkrankheiten, p. 514.
Rothert, Die Sporenentwickelung bei Aphanomyces, p. 502.
Rullmann, W., Ueber Reaktionen des oxydierenden Enzyms der Kuh- und Frauenmilch, p. 489.
Saccardo, P. A., Una malattia crittogamica nei frutti di mandarino: Alternaria tenuis forma chalaroides Sacc., p. 510.
Schidrowitz, Philip, Some experiments on the proteolytic enzyme of malt, p. 472.
Schleyer, Das Schwarzwerden des Meerrettichs, p. 510.
Schneidewind, Die Gründüngung auf besserem Boden, p. 499.
Teichert, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze, p. 492.
Wender, Ueber die Entstehung des Fuselöls im Branntwein, p. 487.
Went, F. A. F. C., West-Indien en de Serehziekte, p. 507.
Winter, H., Biological examinations in the layer beer brewers laboratory and their significance, p. 487.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bellei, G., Intorno ad una speciale reazione del latte, p. 518.
Magerstein, Vinz. Th., Das Wesen des Dr. Büchelerschen Verfahrens zur Herstellung einer 24-stündigen Kunsthefe ohne Milchsäuregärung, p. 517.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Alliot et **Gimel**, De l'action des oxydants sur la pureté des fermentations industrielles, p. 519.
Mokrzecki, S. A., Ueber die Anwendung des Chlorbaryum gegen schädliche Insekten in Gärten und auf Feldern, p. 520.
Rostowzew, S. J., Beiträge zur Kenntnis der Peronosporeen, p. 520.
Schultz, Zur Frage der Unkrautvertilgung, p. 520.

Neue Litteratur, p. 521.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. Jena, den 19. August 1904. **No. 19/21.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten.

Von **Emil Chr. Hansen.**

Wie bekannt, war Reess der Erste, welcher eine systematische Aufstellung der Saccharomyceten vornahm, nämlich in seinen im Jahre 1870 veröffentlichten „Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze“. Die Merkmale, welche die Gattung Saccharomyces charakterisieren, bestehen nach ihm darin, daß die zu derselben gehörenden Arten eine Hefezellenbildung ohne Mycel und eine Vermehrung teils durch Sprossung, teils durch Endosporenbildung haben; die Sporen keimen durch Sproßbildung. Diese Pilze werden von Reess als niedere Ascomyceten aufgefaßt, deren systematischer Platz in der Nähe der Gattung Exoascus

sei, eine Auffassung, welcher die Forschung der Gegenwart sich im Wesentlichen angeschlossen hat. Gegen seine Aufstellung der Arten wurden dagegen gewichtige Einwände erhoben, und es wurde nach und nach den experimentierenden Gärungsphysiologen klar, daß die sicheren Ausgangspunkte hier vollständig fehlten. Reess war kein Experimentator, sondern ein beschreibender Botaniker; er machte keinen Versuch, reine Kulturen darzustellen, sondern beschränkte sich auf eine Beschreibung der Zellen, wie sie ihm in den unreinen Hefemassen, welche er zu seinen Untersuchungen benutzte, vorlagen. Die Gestalt und Größe der Hefezellen und die Größe der Sporen waren die Merkmale, die er in seiner Beschreibung heranzog. Wiewohl er also in dieser Beziehung von unrichtigen Gesichtspunkten ausging, ist seine Arbeit dennoch eine für seine Zeit höchst verdienstvolle, wie ich dies auch schon bei einer anderen Gelegenheit begründet und hervorgehoben habe. Selbst noch heutigen Tags gibt es übrigens Botaniker, welche nicht weiter gelangt sind als er; so begegnet man in systematischen Handbüchern noch immer hier und da einer Beschreibung von neuen und alten Arten, welche nicht über das von Reess gegebene Muster hinausreicht.

Da der von Reess eingeschlagene Weg nicht zum Ziele führen konnte, mußte die Aufgabe hervortreten, eine experimentelle Untersuchung mit absolut reinen Kulturen als Ausgangspunkt vorzunehmen. Es war mir das Los beschieden, in dieser Richtung den Anfang zu machen. In meinen im Jahre 1882 und namentlich 1883 erschienenen Abhandlungen teilte ich eine Reihe Aufschlüsse betreffend die Physiologie einiger der erwähnten Arten mit, wodurch die letzteren auch von neuen Gesichtspunkten aus charakterisiert wurden. Danach folgten ähnliche Untersuchungen mehrerer anderer Forscher. Unser Wissen über die Physiologie und Morphologie der Saccharomyceten wurde in weitem Umfange bereichert und eine große Anzahl Arten wurde bekannt. Das rein systematische Interesse war jedoch auf eine lange Zeit in den Hintergrund getreten. Zumeist gaben sich die Forscher nicht einmal die Mühe, den Arten besondere Namen zu geben.

Dies gilt z. B. auch von den sechs Saccharomyces-Formen, mit welchen ich im Jahre 1883 eine Reihe von experimentellen Untersuchungen anfing; diese sechs Formen tragen in meinen verschiedenen Schriften sowie auch anderswo in der Literatur immer noch die provisorischen Namen:

Saccharomyces cerevisiae I
" Pastorianus I
" " II
" " III
" ellipsoideus I
" " II.

Zur Zeit, als ich sie aufstellte, war ich noch nicht darüber klar, ob sie als Species oder als Varietäten aufgefaßt werden sollten. In den folgenden Jahren wurden die gefundenen Charaktere hier im Laboratorium und anderswo genau geprüft und mehrere

neue wurden aufgefunden. Die von mir vor mehr als 20 Jahren aufgestellten Formen haben sich als konstant erwiesen, und es ist nicht möglich gewesen, die eine in die andere überzuführen. Ich muß nach diesen Untersuchungen sie als besondere Arten auffassen.

Um nicht mehrere systematische Namen als höchst notwendig einzuführen, schlage ich vor, drei von den Reessschen Artnamen in folgender Weise zu benutzen: Die erste meiner oben genannten Arten nenne ich Sacch. cerevisiae, die zweite Sacch. Pastorianus und die fünfte Sacch. ellipsoideus. Für die Art Sacch. Pastorianus II schlage ich den Namen Sacch. intermedius und für die Art Sacch. Pastorianus III den Namen Sacch. validus vor. Diese beiden Arten sind Oberhefen. Reess bezeichnet mit Sacch. Pastorianus eine Unterhefe, und dieser Name kann deshalb nicht für sie, aber wohl für Sacch. Pastorianus I benutzt werden. Den Namen Sacch. validus habe ich an diejenige Art geknüpft, bei welcher die Obergärung stark entwickelt ist, den Namen Sacch. intermedius an diejenige Art, bei welcher zwar eine deutliche, aber nur schwache Obergärung sich findet; sie steht deshalb in der Mitte zwischen Sacch. Pastorianus und Sacch. validus; der Name nimmt eben auch darauf Rücksicht. An meine sechste Art (den früheren Sacch. ellipsoideus II) ist der Name Sacch. turbidans passend zu knüpfen; es ist nämlich diejenige Art, welche in ganz besonderem Grade die unter dem Namen Hefetrübung bekannte Krankheit im untergärigen Biere hervorruft.

Indem nach und nach eine Masse systematischen Stoffes aufgehäuft wurde, mußte nun auch einmal ein Zeitpunkt kommen, wo das Bedürfnis sich aufdrängte, denselben in Ordnung zu bringen und einen systematischen Ueberblick darüber zu erhalten. Die nachfolgenden Auseinandersetzungen verfolgen einen derartigen Zweck; wie der Titel meiner Abhandlung dies zum Ausdruck bringt, gedenke ich jedoch bei dieser Gelegenheit mich lediglich mit den Grundlinien zu beschäftigen; die Arten und Varietäten werden erst in einer späteren, ausführlicheren Abhandlung besprochen werden.

Es vergingen mehrere Jahre, ehe Arten mit neuen und scharf ausgeprägten morphologischen Eigentümlichkeiten beobachtet wurden. Bei diesen Entdeckungen werden wir im Nachfolgenden verweilen. Die erste dieser Arten beschrieb ich im Jahre 1888 in meiner Abhandlung „Ueber das Verhalten der Alkoholgärungspilze gegenüber den Zuckerarten“, unter dem Namen Saccharomyces membranaefaciens[1]). Dieselbe unterscheidet sich hinsichtlich der Hautbildung sehr wesentlich von den bis damals bekannten Saccharomyceten, indem die Zellen in einer zuckerhaltigen Nährlösung sogleich eine Kahmhaut bilden, ebenso wie Mycoderma vini und Mycoderma cerevisiae. Die Häute aller dieser

---

1) Diese und meine übrigen hier angeführten Abhandlungen nebst zugehörigen Abbildungen wurden in den „Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg“ veröffentlicht. Die im Texte genannten Jahreszahlen beziehen sich auf die betreffenden Hefte dieser Comptes-rendus.

Arten sind dadurch gekennzeichnet, daß sie zwischen den Zellen eine reichliche Einmischung von Luft enthalten, wodurch sie sich von den Häuten der zweiten großen Gruppe der Saccharomyceten gänzlich unterscheiden. Auch durch die Form ihrer Sporen ist Sacch. membranaefaciens in hervortretender Weise gekennzeichnet. Die junge Spore ist gewöhnlich fast halbkugelförmig; die ältere Spore hat meist eine eckige und ungleichmäßige Gestalt. Genannte Art ist außerdem auch dadurch gekennzeichnet, daß sie in Bierwürze oder in Lösungen von Saccharose, Dextrose, Maltose oder Laktose keine Alkoholgärung erregt, sowie sie die Saccharose nicht zu invertieren vermag.

Bei einer anderen von mir aufgestellten Art, Saccharomyces Ludwigii, machte ich im Jahre 1891 die Wahrnehmung, daß die Keimung der Sporen auf eine andere Weise vor sich geht als bei den übrigen Saccharomyceten. Bei diesen können von einem jeden Punkt der Oberfläche der keimenden Spore Sproßzellen sich entwickeln, also gleich wie bei der vegetativen Zelle; bei der oben genannten Art dagegen kommt bei der Keimung der Spore eine Promycelbildung hervor, und von hier aus entwickeln sich die Hefezellen.

Bei den jungen Sporen gilt die Regel, daß bei der Keimung eine Verschmelzung der Promycelien zweier Sporen stattfindet; bisweilen verschmelzen auch mehrere Sporen vollständig [1]). Bei den alten Sporen tritt zumeist keine Verschmelzung ein.

Die Sproßbildung bei den vegetativen Zellen geschieht wohl am häufigsten von dem einen Endpunkt der Mutterzelle, kann jedoch auch an irgend einem anderen Punkt entstehen und zeigt somit überhaupt alle hauptsächlichen Charaktere der als typisch zu bezeichnenden Sprossung bei Saccharomyces sowie bei den Hefezellen überhaupt. In einer anderen Hinsicht ist indes die Sproßbildung bei Saccharomyces Ludwigii etwas abweichend von der bei den eigentlichen Saccharomyceten auftretenden. Die Einschnürung hört nämlich auf einem ziemlich frühen Stadium auf und es ist dann noch immer eine deutliche Querwand wahrnehmbar, durch deren Spaltung die neue Zelle frei gemacht wird; erst nachdem dieses geschehen ist, tritt eine Abrundung ein; wir haben hier also zwar eine Sproßbildung, aber mit unvollständiger Abschnürung. Gegenüber der die gewöhnlichen Saccharomyces-Arten kennzeichnenden Sproßbildung ist der Unterschied jedoch bloß ein gradueller, kein prinzipieller.

1) Guilliermond hat in den in den letzten Jahren von ihm publizierten Abhandlungen über die Hefezellen auch Saccharomyces Ludwigii mit behandelt. In seinen ersten Mitteilungen über diese Art betonte er, daß er die von mir beschriebene Verschmelzung nie habe wahrnehmen können; es war demnach möglich, daß meine diesbezüglichen Mitteilungen auf einem Irrtum beruhen konnten, eine Möglichkeit, auf welche auch in mehreren Referaten hingewiesen worden ist. Später hat Guilliermond jedoch nach Untersuchung eines neuen Materials die Richtigkeit meiner Untersuchungen bestätigt. In den Referaten hat man aber diese Berichtigung meistens mit Stillschweigen übergangen und nur seine erste Beobachtung angeführt. Ich fühle mich deshalb veranlaßt, bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam zu machen.

Bei einer Art, welche ich 1891 unter dem Namen Saccharomyces anomalus beschrieb, beobachtete ich, daß die Sporen eine sehr eigentümliche Form hatten. Dieselben sind nämlich mehr oder minder halbkugelförmig, mit einer von der Grundfläche hervorspringenden Leiste, so daß sie Aehnlichkeit mit einem Hut mit Krempe bekommen. Gleich zu Anfang der Gärung erregt dieser Hefepilz eine kräftige Aether- und Hautbildung. Derselbe ist ein echter Kahmhautbildner, ebenso wie Saccharomyces membranaefaciens, und alles, was betreffs der Hautbildung dieser Art gesagt wurde, gilt auch hier.

Diese drei Arten unterscheiden sich also durch scharf ausgeprägte Merkmale voneinander und von den übrigen, bisher der Gattung Saccharomyces beigezählten Arten. Die angegebenen Merkmale sind sogar schärfer als jene, durch welche gewöhnlich die Gattungen in der Mykologie voneinander unterschieden werden. Jetzt, wo es sich darum handelt, sämtliche bis heute bekannte Saccharomyceten in ein System zu bringen, halte ich es für das Richtigste, die drei Arten als Typen von drei neuen Gattungen aufzustellen. Es wurde schon bei früheren Gelegenheiten nicht allein von mir, sondern auch von P. Lindner und Anderen darauf hingewiesen, daß es bei einer systematischen Revision sich herausstellen würde, daß ihnen der angegebene systematische Wert zukomme. Die hauptsächliche Ursache, warum diese Revision erst jetzt vorgenommen wird, habe ich oben angedeutet.

Für die zweite der hier in Rede stehenden Gattungen schlage ich den Namen *Saccharomycodes* vor, durch welchen ihre nahe Verwandtschaft mit Saccharomyces angedeutet ist. An die beiden anderen möchte ich mir erlauben, die Namen zweier höchst verdienstvoller Kollegen zu knüpfen, indem ich Saccharomyces anomalus und die dieser sich anschließenden Arten mit dem Gattungsnamen *Willia*, Sacch. membranaefaciens nebst den um sie sich gruppierenden mit dem Gattungsnamen *Pichia* belegen werde. Prof. Dr. H. Will hat nicht nur zu einem frühen Zeitpunkt Arten beobachtet, welche zu der nach ihm benannten Gattung gehören, sondern von seinem Laboratorium sind auch die ausführlichsten Untersuchungen über diesen Gegenstand ausgegangen; und Prof. Dr. Pichi verdanken wir, wie bekannt, vorzügliche Untersuchungen, Beschreibungen und Abbildungen von Arten, welche mit der von mir entdeckten nahe verwandt sind.

Im Jahre 1893 stellte P. Lindner eine neue Gattung auf, welche er mit Recht als einen „durchaus eigenartigen Typus unter den Hefen“ bezeichnete. Er gab ihr den Namen „Schizosaccharomyces“ (Spalthefe), weil ihre vegetative Vermehrung lediglich dadurch vor sich geht, daß in jeder Zelle eine oder mehrere scharfe Querwände sich bilden, wonach die so entstandenen Glieder durch eine Spaltung frei gemacht werden. Diese Vermehrungsweise besitzt große Aehnlichkeit mit der bei Oïdium und vielen Bakterien beobachteten. Von einer Sproßbildung ist keine Spur nachweisbar. Die einzige morphologische Uebereinstimmung zwischen dieser Form und Saccharomyces ist die, daß beide eine Endosporenbildung

aufweisen. Die zuerst beschriebene Art war Schizosaccharomyces Pombe. Später ist eine recht beträchtliche Anzahl Arten hinzugekommen.

Wie man sich erinnern wird, gibt es zwei Hauptmerkmale, welche die zahllosen Arten von Saccharomyceten zusammenknüpfen, nämlich die Sprossung und die Endosporenbildung; das eine dieser beiden Merkmale ist ebenso wichtig wie das andere; wird eines derselben weggenommen, so geht das ganze auseinander; beide sind zur systematischen Abgrenzung notwendig. Die Gattung Schizosaccharomyces ist demnach außerhalb der Familie der Saccharomyceten zu stellen. Wo ihr Platz im System eigentlich ist, läßt sich im Augenblick noch nicht mit Sicherheit entscheiden; bis auf Weiteres dürfte sie am besten in die Nähe der Saccharomyceten gestellt werden. Sie ist jedoch von diesen noch mehr verschieden als die Exoasceen. In morphologischer Beziehung nähern sie sich der Gruppe von Bakterien, welche mit Endosporenbildung ausgestattet ist. Wenn man ihr bisher einen Platz unter den Saccharomyceten belassen hat, so liegt dies einerseits daran, daß den systematischen Fragen kein besonderes Interesse geschenkt wurde, andererseits wohl auch daran, daß man erwartete, endlich einmal eine, wenngleich schwache, Sproßbildung zu entdecken. Dieses ist indes nicht geschehen. Trotzdem wir nunmehr mehrere Arten von Schizosaccharomyces kennen und trotzdem seit einer Reihe von Jahren, sowohl im Carlsberger Laboratorium als auch anderwärts mit denselben eifrig experimentiert wurde, hat man doch auch nicht das geringste Zeichen einer Hefezellenbildung wahrnehmen können.

Im Jahre 1901 machte Barker die Mitteilung, daß er bei einem Saccharomyceten eine eigenartige Konjugation entdeckt habe. Er stellte die betreffende Art als Typus einer neuen Gattung, Zygosaccharomyces, auf[1]). Der Prozeß geht in der Weise vor sich, daß die beiden daran beteiligten Zellen je eine schnabelförmige Verlängerung treiben. Diese Verlängerungen treten dann in Verbindung miteinander und verschmelzen, indem die Wände an dem Berührungspunkt aufgelöst werden; beide Zellen werden hierdurch wie durch eine Brücke verbunden; eine weitergehende Verschmelzung der beiden Zellen findet nicht statt. Seine Beobachtungen zeigten darauf hin, daß die beschriebene Fusion von einem Verschmelzen der Zellenkerne der betreffenden beiden Zellen begleitet ist; bestimmt festgestellt wurde dieses aber nicht. Nach erfolgter Verschmelzung der schnabelförmigen Verlängerungen entwickeln sich Sporen in jeder der betreffenden Zellen. Im übrigen stimmt diese Art mit den allgemeinen Saccharomyces überein. Auch bei anderen Saccharomyceten hat man in jüngster Zeit einen geschlechtlichen Akt wahrzunehmen geglaubt, wenngleich der Vorgang ein etwas verschiedener ist. Diese Untersuchungen verdanken wir namentlich Barker, Guilliermond, Janssens, Leblanc und Wager. Es herrscht indes noch immer Streit, nicht nur

1) Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Ser. B. Vol. CLXLIV. p. 467—485.

über die richtige Auffassung, sondern auch über die Tatsachen selbst. Die meisten Forscher neigen wohl der Anschauung zu, daß wenigstens in einigen Fällen ein wirklicher Sexualakt vorliege; es wird jedoch wahrscheinlich noch lange dauern, bis eine endgültige Entscheidung dieser Frage erzielt werden kann.

In der arzneiwissenschaftlichen Literatur wurde, lange bevor von exakten Forschungen auf unserem Gebiete die Rede war, einer eigentümlichen Art unter dem Namen Saccharomyces guttulatus Erwähnung getan. Im Jahre 1896 entdeckte Buscalioni Sporen bei derselben, und 2 Jahre später beobachtete Wilhelmi die Keimung dieser Sporen. Er wies nach, daß die Spore 2 Membranen besitzt. Bei der Keimung birst die äußere dieser Membranen an irgend einem Punkte, also in unregelmäßiger Weise. Das weitere Wachstum erfolgt durch eine Sproßbildung. Schiönning beschrieb in seiner im Jahre 1903 veröffentlichten Abhandlung [1]) eine neue Art, deren Spore ebenfalls 2 Membranen besitzt, von denen jedoch die äußere bei der Keimung sich mit 2 Klappen öffnet und sowohl durch Schwefelsäure als auch durch mehrere andere Mineralsäuren rosenrot gefärbt wird. Die Keimung geschieht auf die nämliche Weise wie bei der vorigen Art, und die vegetative Vermehrung geht ebenfalls durch eine normale Sproßbildung vor sich. Diese Art tritt mit einem stark entwickelten Mycel auf, und das Aussehen ihrer Vegetation unterscheidet sich in auffälliger Weise von dem der bisher bekannten Saccharomyceten. Infolge des besonderen Baues der Sporen faßt Schiönning die beiden letztgenannten Arten in eine neue Gattung zusammen, und dieser erteilt er den Namen Saccharomycopsis, wodurch angegeben wird, daß sie einige Aehnlichkeit mit Saccharomyces hat. Seine neue Art benennt er Saccharomycopsis capsularis.

Endlich kann hier noch die von Klöcker entdeckte Art Saccharomyces Saturnus [2]) genannt werden, deren Sporen zitronenförmig sind und mit einer Leiste um die Mitte versehen sind; dieselben erinnern dadurch an die gewöhnlichen Abbildungen des Planeten Saturn, daher der Name. Durch ihre Leistenbildung, sowie auch dadurch, daß sie ein echter Kahmhautbildner ist, schließt diese Art sich jenen der vorerwähnten Gattung, Willia, an; aber, wie oben erwähnt wurde, die Form der Spore ist eine andere. Es ist wohl wahrscheinlich, daß man, wenn neue Arten, welche sich der soeben genannten anschließen, beobachtet worden sind, die Klöckersche Art als Typus einer besonderen Gattung aufstellen wird.

Die oben genannten Arten wachsen alle mit Ueppigkeit in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten, und ihre Beschreibung ist, wie angedeutet wurde, auf Züchtungsversuchen mit absoluten Reinkulturen gestützt. Keines von beiden ist mit dem nachfolgenden, im Jahre 1884 von Metschnikoff beschriebenen merkwürdigen

---

1) Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. Vol. VI. Livr. 2. p. 97—125.

2) Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. Vol. VI. 1903. Livr. 2. p. 84—91.

Sproßpilz, Monospora cuspidata, der Fall, welchen er in einigen Flohkrebsen, (Daphnia) entdeckte [1]). Die Spore dieses Pilzes hat die Gestalt einer langen, dünnen, an beiden Enden zugespitzten Nadel, und es tritt in jedem Schlauch nur eine Spore auf; der Name ist aus diesen Merkmalen hergeleitet. Die Keimung der Spore geschieht dadurch, daß von ihrer Mitte ein Keimfaden ausgeht, an dessen Ende dann durch Sprossung neue Zellen hervorkommen, welche sich wiederum durch Sproßbildung vermehren. Die Beobachtungen wurden gemacht, während der Pilz sich in den Körpern der Tiere befand. Die angestellten Züchtungsversuche mißlangen, und meines Wissens ist diese Art später von keinem Forscher untersucht worden. Sie verdient jedoch sicherlich, zum Gegenstand eines eingehenderen Studiums gemacht zu werden.

Ein Gleiches gilt auch von Nematospora Coryli. Diese ebenfalls sehr bemerkenswerte Art wurde im Jahre 1897 von Peglion entdeckt [2]). Sie hat ihren Artnamen davon, daß sie in den Kernen der Haselnuß ihren Aufenthalt hat. Peglion stellte Reinkulturen dieses Pilzes auf Fleischbrühegelatine dar. Der Pilz vermehrt sich teils durch Endosporenbildung, teils durch Sprossung; letztere geht jedoch, nach Peglions Beschreibung und Abbildungen zu beurteilen, nur an den Enden der Mutterzelle vor sich und kommt demnach der typischen Sproßbildung, welche die Saccharomyces-Gattung bezeichnet, nicht ganz gleich. Die Spore ist sehr langgestreckt, spindelförmig, fast fadenförmig, und von dem einen Ende derselben geht eine lange Geißel aus. Wenn die Spore keimt, wird von dem einen Ende oder von beiden eine oder zwei Sproßzellen abgeschnürt. Betreffs der vegetativen Zellen wird angegeben, daß sie eine doppelte Wandung, eine äußere und eine innere Membran, besitze; dies ist also wieder ein Charakter, in welchem diese Art mit den Saccharomyceten nicht übereinstimmt, unter welche Peglion sie trotzdem rechnet. Auch in Hinsicht auf die anderen Merkmale bestehen, wie aus einer näheren Betrachtung des oben Angeführten ersichtlich sein wird, nicht unerhebliche Verschiedenheiten. Die Vergleichungen, welche er zwischen seiner Nematospora Coryli und andererseits den Saccharomyceten anstellt, beruhen in wesentlichen Punkten auf Mißverständnissen. Nematospora Coryli gedeiht eigentlich nur auf festem Nährboden; in Flüssigkeiten gerät die Sproßbildung ins Stocken, und der Pilz bildet hier nur ein steriles Mycel. Derselbe ist bisher von keinem anderen Forscher als seinem Entdecker untersucht worden.

Es besteht in einigen Punkten Uebereinstimmung zwischen Monospora und Nematospora sowie auch einer dritten Art, welche, laut Metschnikoffs Angabe in seiner oben angeführten Abhandlung, Bütschli bei einem frei lebenden Nematoden, Tylenchus pellucidus, gefunden haben soll. Von allen drei

1) Virchows Archiv für patholog. Anatomie u. Physiologie und für klin. Medizin. Bd. XCVI. 1884. p. 177.

2) Eine ausführliche Beschreibung seiner Untersuchungen gab er im Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde etc. Abt. II. Bd. VII. p. 754.

Pilzen darf wohl behauptet werden, daß sie, soweit aus den gegebenen Beschreibungen sich ersehen läßt, nicht in die Familie der Saccharomyceten gehören; nicht bloß ihr Aussehen, sondern auch ihre charakteristischen Merkmale im ganzen genommen deuten darauf hin, daß sie eine Sonderstellung einnehmen. Wenn wir dieselben den Saccharomyceten zuteilen, so müssen sie hier jedenfalls eine besondere Gruppe bilden. Ich und meine Mitarbeiter im hiesigen Laboratorium haben vergebens nach diesen Arten gesucht und werden Material davon dankbar entgegennehmen, falls jemand in der Lage wäre, uns solches zustellen zu können.

In dem von Reess aufgestellten System der Saccharomyceten tritt nur eine Gattung auf, und unter dieser beschreibt er 7 Arten; wir kennen nunmehr, wenn wir Monospora und Nematospora mitrechnen, acht Gattungen mit ungefähr 100 Arten, so daß die Familie einen beträchtlichen Zuwachs bekommen hat. Unten folgt eine systematische Uebersicht:

Familie der Saccharomycetes.

Sproßpilze mit Endosporen- und reichlicher Hefezellenbildung. Typisches Mycel nur bei wenigen Arten. Jede Zelle kann als Sporenmutterzelle auftreten. Spore 1-zellig; Anzahl der Sporen gewöhnlich in jeder Mutterzelle 1—4, selten bis 12.

A. Echte Saccharomyceten.

1. Gruppe.

Die Zellen bilden in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten sofort Bodensatzhefe und erst weit später eine Haut, deren Vegetation schleimig, ohne Einmischung von Luft ist. Sporen glatt, rund oder oval, mit 1 oder 2 Membranen; Keimung durch Sprossung oder durch Keimschlauchbildung (Promycel). Alle oder jedenfalls die meisten zu dieser Gruppe gehörigen Arten rufen Alkoholgärung hervor.

Gattung I. Saccharomyces Meyen.

Die mit 1 Membran versehenen Sporen keimen durch Sprossung. Außer Hefezellenbildung bei einigen zugleich Mycel mit scharfen Querwänden.

Hierher gehören die von mir im Jahre 1883 beschriebenen vorn erwähnten 6 Arten, ebenso die in den folgenden Jahren von mir, Aderhold, Artari, Beijerinck, Forti, Grönlund, Holm, Jörgensen, Kayser, Klöcker, Van Laer, Lendner, Lindner, Marshall-Ward, Marx, Osterwalder, Prinsen Geerligs, Seifert, Wehmer, Went, Will, Wortmann, Yabe, Zopf u. a. beschriebenen Arten. Auch die in den Berichten von den zahlreichen gärungstechnischen Laboratorien besprochenen, gewöhnlich unvollständig beschriebenen Hefearten, welche in der Bier-, Preßhefe- und Spiritusfabrikation samt Trauben- und Obstweingärung verwendet werden, gehören hierher.

Gattung II. Zygosaccharomyces Barker.

Zeichnet sich durch eine Kopulation der Zellen aus, stimmt übrigens mit der vorhergehenden Gattung überein.

Hierher gehört die obenerwähnte, von Barker beschriebene Art.

Gattung III. Saccharomycodes E. Chr. Hansen.

Durch die Keimung der mit 1 Membran versehenen Sporen entwickelt sich ein Promycelium. Von diesem sowie von den

vegetativen Zellen findet eine Sprossung mit unvollständiger Abschnürung statt. Mycelbildung mit deutlichen Querwänden.

Zwei Arten sind bekannt, nämlich der im vorhergehenden erwähnte Saccharomycodes Ludwigii (Syn. Saccharomyces Ludwigii E. Chr. Hansen) und eine andere Art, von welcher Behrens in der Wochenschr. f. Brauerei, 1896, p. 850 eine ausführliche und eingehende Beschreibung gibt, doch ohne einen systematischen Namen daran zu knüpfen.

Gattung IV. Saccharomycopsis Schiönning.

Die Spore besitzt 2 Membranen; übrigens stimmen die Charaktere in so weit sie bekannt sind am nächsten mit denjenigen des Saccharomyces überein [1]).

Saccharomycopsis guttulatus (Syn. Saccharomyces guttulatus Aut.).

Saccharomycopsis capsularis Schiönning.

2. Gruppe.

Die Zellen bilden in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten sofort eine Kahmhaut, welche der Lufteinmischung wegen trocken und matt ist und deutlich sich von der Hautbildung der 1. Gruppe unterscheidet. Sporen halbkugelförmig, eckig, hut- oder zitronenförmig, in den zwei letzteren Fällen mit einer hervorspringenden Leiste versehen, übrigens glatt; nur mit 1 Membran; Keimung durch Sprossung. Die meisten Arten zeichnen sich durch ihre Esterbildung aus, einige rufen keine Gärung hervor.

Gattung V. Pichia E. Chr. Hansen.

Spore halbkugelförmig oder unregelmäßig und eckig. Keine Gärung; starke Mycelbildung.

Pichia membranaefaciens (Syn. Sacch. membranaefaciens E. Chr. Hansen). Ebenfalls einige von Pichi beschriebenen Arten. Zu dieser Gattung gehören wahrscheinlich auch Lindners zwei Arten: Saccharomyces hyalosporus und Sacch. farinosus.

Gattung VI. Willia E. Chr. Hansen.

Spore hut- oder zitronenförmig mit stark hervorspringender Leiste. Die meisten Arten sind kräftige Esterbildner, einige wenige rufen keine Gärung hervor.

Willia anomala (Syn. Sacch. anomalus E. Chr. Hansen). Willia Saturnus (Syn. Sacch. Saturnus Klöcker). Ebenfalls die von Steuber in der Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 1900, beschriebenen Arten und Varietäten.

B. Zweifelhafte Saccharomyceten.

Monospora Metschnikoff und Nematospora Peglion. Ueber Gattung- und Artcharaktere siehe das Vorhergehende.

Carlsberg Laboratorium, Mai 1904.

---

1) Bei Saccharomycopsis guttulatus ist die Hautbildung noch nicht untersucht worden, bei S. capsularis hat sie auf einem späteren Stadium eine große äußere Aehnlichkeit mit derjenigen des Oidium lactis. Es wird sich wahrscheinlicherweise herausstellen, daß die gedachte Gattung die Aufstellung einer besonderen Gruppe fordern wird.

Nachdruck verboten.

Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien.

[Arbeit aus dem botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **Ernst Neide.**

Mit 3 Tafeln.

(Schluß.)

Nach 22—24 Stunden sind die völlig ausgebildeten Sporangien im Durchschnitt 3,8 μ lang. Die Sporangienmembran wird schnell aufgelöst, so daß man nach 24 Stunden schon vereinzelte freie Sporen antrifft. Ist das ursprüngliche Ausgangssporenmaterial noch jung, so hängen den Sporen mitunter noch einzelne Teile der Sporangienmembran an. Im allgemeinen ist die Entwickelung des B. sphaer. von Spore zu Spore mit 30 Stunden abgeschlossen. Nach 3—4 Tagen finden sich noch alle einzelnen Wachstumsstufen. Das Kondenswasser bleibt während der Entwickelung der Agarkolonie stets hell. Am Boden befindet sich ein langsam sich vermehrender, weißer, staubähnlicher Niederschlag. Nach 6 Tagen sind außer wenigen Doppelstäbchen vorherrschend Sporangien, Sporen und Einzelstäbchen verschiedener Länge, aber selten mehr als 3-lang vorhanden. Fäden werden nicht gebildet. Das Kondenswasser einer 3 Wochen alten Agarkultur enthält hauptsächlich Sporen, sowie Einzel- und wenig Doppelstäbchen in schlechtem Ernährungs- und Degenerationszustande. Die Stäbchen sind bis 3-lang und unseptiert (Chlorzinkjod).

Wachstum auf Agar ohne Dextrose. B. sphaer. wächst auf Agar ohne Dextrose weniger kräftig. Art der Entwickelung, Beweglichkeit, Bildung der Reservestoffe zeigen keine Unterschiede gegenüber dem Wachstum auf Dextroseagar.

Die Beweglichkeit. B. sphaer. zeigt eine außergewöhnlich große Beweglichkeit. Diese beginnt kurz nach der Keimung und ist zwischen 14 und 22 Stunden nach der Impfung am lebhaftesten. Sie setzt sich bis zu 3 und 4 Tagen auf der Agarfläche, im Kondenswasser bis über 6 Tage lang fort. Auch die Sporangien befinden sich in lebendigster Bewegung. — Die Geißelfärbung gelingt ohne Erhitzen des Säurevioletts nach der Beizung in 3'. Die Begeißelung ist peritrich, die Geißeln sind zahlreich und sehr kräftig (Fig. VIII d, 6, 7).

Agarstrichkultur. In den ersten 14—20 Stunden ist ein Wachstum der Kolonie mit dem bloßen Auge oder mit der Lupe nicht bemerkbar. Mit der Platinöse läßt sich das Material nur als wässerige Flüssigkeit abheben. Nach 24 Stunden bildet sich ein hauchartiger, von der Agarfläche kaum unterscheidbarer Ueberzug. Dieser bildet nach 40—72 Stunden einen ganz weichen Belag von der Farbe des hellen Agars, nur wenig ins weißliche schimmernd. Nach 5 Tagen hat das Aussehen sich wenig verändert. Später hebt sich die Kolonie mehr ab, besonders in der Nähe des Kondenswassers und wird bei 3—4 Wochen alten Kulturen im oberen Teile

gelbbräunlich. Das Kondenswasser bleibt bei nicht geschüttelten Kulturen völlig hell. Allmählich entsteht ein feinkörniger, weißer Niederschlag.

Agarstich: Nach 2 Tagen war im Stich ein nebliger Streifen bis zum Grunde des Agars gebildet. Auf der Oberfläche entwickelte sich eine hauchartige, weißliche Kolonie. Nach 6 Tagen ist der Streifen im Agar strichartig geworden. Nach 10 Tagen hat sich die Kolonie über die ganze Oberfläche ausgebreitet und sieht, wie der Streifen im Stich, gelb-braun aus.

Gelatineplatte: Bei einer Durchschnittstemperatur im Zimmer von ca. 20° ist die erste Entwickelung der Kolonieen makroskopisch und mikroskopisch nicht leicht zu beobachten. Es sind nach 2 Tagen makroskopisch und mit der Lupe nur geringe nebelige Trübungen sichtbar, deren Rand wenig begrenzt, ganz allmählich und verschwommen in die umgebende Gelatine übergeht. Nach 3 Tagen finden sich in den Kolonieen meist Einzelstäbchen, nach 4 Tagen Sporangien.

Eine von vorstehendem ganz abweichende Entwickelung zeigt der Bacillus bei niedrigerer Zimmertemperatur, ca. 15—18°. Nach 4 Tagen erscheinen auf der Platte ovale oder runde weiß-gelbe Punkte von unregelmäßiger Umrandung, die sich scharf gegen das Nährsubstrat absetzt. Mikroskopisch erscheinen die Kolonieen bei hoher Lage gelb, bei tiefer bräunlich, fein, aber ungleichmäßig gekörnt. Am Tage nach ihrem Erscheinen haben die Kolonieen auch makroskopisch einen gelben Schein. Die Umrandungen der größeren Kolonieen bilden flache Aus- und Einbuchtungen. Für die weitere Entwickelung ist die Höhe der Gelatineschicht maßgebend. Es tritt ein deutlicher Unterschied zwischen den Kolonieen ein, je nachdem dieselbe Quantität Gelatine in eine kleinere oder größere Petri-Schale gegossen ist. In ersterer bleiben die Kolonieen in sich geschlossen, in letzterer wachsen sie nach 6 bis 7 Tagen exzentrisch rasch weiter, werden makroskopisch am Rande weiß, in der Mitte durchsichtig, mikroskopisch haben sie einen braunen Rand, von dem aus sich ein durcheinander gekraustes Gezweig von haarartigen, bisweilen wurzelartigen Ausläufen in die umgebende Gelatine erstreckt.

Gelatinestich. Bei einer Zimmertemperatur von 17—18° erscheinen nach 4 Tagen auf der Oberfläche kleine, kugelig aufsitzende, durchscheinende Kolonieen, im Innern des Stiches bis zum Grunde des Röhrchens kleine, gelbliche Körnchen. Nach 10 Tagen gingen von letzteren nach allen Seiten zahlreiche haarartige Strahlen aus. Nach 14 Tagen hatten sich die Oberflächenkolonieen zu einem zusammenhängenden, weiß-grauen Belag vereinigt. Im Innern des Stiches verschmolzen die Ausstrahlungen nach 3 Wochen zu einer wolkenartigen Hülle. Verflüssigung war nicht zu bemerken. Ist die Zimmertemperatur im Durchschnitt zwischen 20 und 22°, so gleicht die Entwickelung des B. sphaer. im Gelatinestich derjenigen auf der Platte. Das Wachstum an der Oberfläche und im Stich macht sich nur durch eine leichte, nebelige Trübung bemerkbar. Nach 3 Wochen war Verflüssigung auf $^1/_2$ cm, nach

$5^1/_2$ Wochen auf 3 cm, nach 3 Monaten in einer Höhe von 8 cm eingetreten. Die Flüssigkeit war klar.

Kartoffelscheibe. Nach 2 Wochen hatte sich ein dünner, grauer, glänzender Belag entwickelt, der vorherrschend aus beweglichen Stäbchen, Sporangien und wenig Sporen bestand. Nach 4 Wochen war der Belag bräunlich, von wenigen weiß-grauen Furchen durchzogen. Die Kolonie enthielt meist Sporen.

Möhrenscheibe. Es findet geringes Wachstum statt. Aeußerlich blieb das Aussehen der Scheibe unverändert. Die mit der Platinnadel 14 Tage nach der Impfung abgenommenen Stäbchen und Sporangien waren zwar schmäler wie die normalen, sahen aber sonst kräftiger aus und hatten Volutanskugeln. Nach 4 Wochen ist der Zustand annähernd derselbe.

Entwickelungsgang in Nährlösungen:

B. sphaericus keimt in den N.L. I, II, Vα, X. N.L. II: Nach 24 Stunden bewegliche, bis 2-lange Einzelstäbchen, weniger Doppelstäbchen. Nach 48 Stunden neben Sporangien einzelne freie Sporen. Nach 4 Tagen viele Sporen neben beweglichen Einzel- und Doppelstäbchen und Einzelsporangien. Fäden wurden auch nach längerer Zeit nicht gefunden. N.L. X: Nach 24 Stunden dieselben Entwickelungserscheinungen wie bei II. Nur bildet sich nach 2—3 Tagen auf der Flüssigkeit eine lose gefügte Kahmhaut. In der Lösung nach 4 Tagen bewegliche Oidien, Sporangien und zahlreiche Sporen und 70- und mehrstäbige Fäden, letztere besonders in der Kahmhaut.

Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen nach 4 wöchentlicher Entwickelung bei 28°: N.L. 0: Lösung klar. Dichter, fest zusammenhängender feinkörniger Niederschlag. Hauptsächlich Sporen. I: Lösung trübe, sonst wie vor. II: Die leicht getrübte Lösung hat auf dem Boden einen etwas bräunlichen Niederschlag, der nach dem Schütteln die Flüssigkeit gleichmäßig trübt. Auf der Flüssigkeit liegt ein leichtes Häutchen. Außer viel Sporen und wenigen Sporangien noch zahlreiche Einzelstäbchen, seltener Doppelstäbchen. Jene sind 1- bis 4-lang, unseptiert (Chlorzinkjod), zum Teil noch kräftig entwickelt mit Volutanskugeln. IV: Lösung klar, auf dem Boden ein Niederschlag, der beim Schütteln die Flüssigkeit gleichmäßig trübt. Außer zahlreichen Sporen wenig Einzel- und Doppelstäbchen, vielfach degeneriert, die kräftigen mit großen Volutanskugeln. Vα: Lösung klar mit dünnem Häutchen und dichtem Niederschlag. Nach dem Umschütteln milchfarbenes Aussehen. Sporen, Sporangien, Stäbe bis 3-lang unseptiert und bis 20- und mehrlange Fäden von 0,3—0,4 μ Breite, septiert und unseptiert. Die kräftigen Stäbe sehr große Volutanskugeln. Vβ: Wachstum in den ersten 14 Tagen nur schwach, nach 4 Wochen reichlich. Die klare Lösung mit lose gefügten Häutchen und einem nicht starken, aber dichten Niederschlag. Trübung nach dem Schütteln und Entwickelung wie Vα. X: Unter einer weißen Kahmhaut eine trübe Lösung. Vgl. Entwickelungsgang. In III, V, Vγ, δ, VI—IX und XI keine Entwickelung.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	4	4	0	2	0	2	3	0	0	0	0	0—1	0	4	0

Alkalibildung findet statt in N.L. IV und Vα. Indikator: Dimethylamidoazobenzol. N.L. Vα 10 ccm = 0,1 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Entwickelung in Vα bei 28°. 1) Nach 8 Tagen 10 ccm = 4,33 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) Nach 15 Tagen 10 ccm = 3,85 ccm N.Schw. 3) Nach 4 Wochen 10 ccm = 3,4 ccm $^1/_{10}$ N.Schw.

Reservestoffe: Volutin, Glykogen nicht mit Sicherheit nachweisbar. Diastase- und Gasbildung nicht vorhanden. Ab-

tötungszeit der Sporen bei 100°: 8'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: ca. 2'.

Die in der Eiche und in der Cypresse gefundene, gleichartige Species.

Die zur Untersuchung auf sporenbildende Bakterien den modernden Holzstämmen entnommenen Proben wurden jedesmal 8—10 cm unterhalb der Oberfläche herausgehoben, damit das Wachstum der Bacillen im Holze des Baumes selbst gesichert erschien.

1) Der aus der Eiche isolierte Bacillus hatte nach mehrmaligen Umimpfungen auf Dextroseagar immer noch einige Verschiedenheiten, die auf eine besondere Species hinwiesen. a) In morphologischer Beziehung waren die Sporen kleiner als diejenigen des B. sphaer. und zwar normal zwischen 0,8—1,0 μ, selten bis 1,2 μ. Die Sporangien besaßen eine Länge von 2,0—3,5 μ, waren mithin auch wesentlich kleiner, als diejenigen des B. sphaer. b) In biologischer und physiologischer Hinsicht war die Agarstrichkolonie schleimiger, die Gelatineplattenkolonieen mehr gelb-braun und mit zopf- und strahlenartigen Auswüchsen versehen. Die Entwickelung auf Dextroseagar brauchte ca. 30 statt ca. 18 Stunden zur Sporangienbildung. Nach 12—17 Stunden hatten sich bis 60-lange, septierte Fäden auf der Agarfläche, wie im Kondenswasser gebildet. Die Membran der Stäbchen und Fäden erschien stärker. Wachstum und Alkalibildung erfolgte auch in Kaliumnitritlösung (N.L. VIII).

Alle diese Abweichungen nehmen indes mit der Häufigkeit der Umimpfungen auf Dextroseagar ab, so daß nach etwa 2 Monaten beide Species in Entwickelung und Form mit einander fast völlig übereinstimmten. Nur der Unterschied des Wachstums in Kaliumnitritlösung (N.L. VIII) blieb bestehen. Der aus dem Sumpf gezüchtete B. sphaer. wächst nicht in dieser Nährlösung.

2) Der aus der Cypresse isolierte Bacillus zeigte von Anfang an weniger große Abweichungen von B. sphaer., die sich mit der Dauer der Dextroseagarkultur mehr und mehr ausglichen. Mit dem Bacillus der Eiche stimmte er insofern überein, als er gleichfalls in N.L. VIII mittleres Wachstum hatte. Abweichend ferner von B. sphaer. sowohl, wie von dem Bacillus der Eiche entwickelte er sich nicht in N.L. Vδ, in welcher die beiden erstgenannten ziemlich gut gediehen.

Beziehungen des B. sphaericus zu B. fusiformis.

B. sphaer. steht in morphologischer und biologischer Hinsicht dem B. fusiformis nahe. Dieser Bacillus ist, was Gottheil nicht erwähnt, vielleicht synonym dem von A. Koch beschriebenen B. inflatus. Zwar schreibt A. Koch seinem Bacillus cylindrische Sporen zu und gibt denselben dementsprechend in der Zeichnung. Aber dieselbe cylindrische Zeichnung der Sporen zeigt auch der nachher von A. Koch beschriebene B. alvei, der ausgesprochen runde Sporen hat. Aehnlich ist der B. sphaericus dem B. fusiformis

1) In Form und Größe der Sporen. Zum näheren Vergleich

sind die Sporen beider nebeneinander abgebildet (Fig. VIIIa 1—6 u. f.). Hierbei sei erwähnt, daß die von Gottheil gegebene Zeichnung der Sporen des B. fusif. zu klein gegenüber der im Text angegebenen Größe ist. Die Originalkultur ist von mir kontrolliert. Die Zeichnung müßte größer sein, die Zahlen von Gottheil stimmen. 2) In der Keulen- bezw. Trommelschägerform der Sporangien. 3) In der schnellen Entwickelung von Spore zu Spore. 4) In der lebhaften Schwärmtätigkeit und vorherrschenden Bildung von Einzel- und Doppelstäbchen. 5) In dem Vorkommen von Volutanskugeln. 6) In den ähnlichen Merkmalen der Agarstrichkultur und dem Wachstum auf Kartoffel- und Möhrenscheibe.

B. sphaericus unterscheidet sich von B. fusiformis: 1) Im allgemeinen erreicht B. sphaer. die Größe von B. fus. nicht. Sporen über 1,5 μ Durchmesser sind bei ihm von mir nicht beobachtet. Im Durchschnitt beträgt sein Sporendurchmesser 1,2 μ, bei B. fus. 1,5 μ. Daß bei letzterem Exine und Intine auch ohne Färbung zu unterscheiden sind, liegt an dem von mir angewandten besseren Objektiv. Die Intine ist auch bei B. fus. breit, die Exine nicht so stark wie bei B. sphaer. 2) Eine bauchige, spindel- oder schiffchenförmige Anschwellung der Sporangien, mit zentraler Sporenlagerung, wie sie bei B. fus. die Regel bildet, ist von mir bei B. sphaer. nur 2mal beobachtet. Die Köpfchen der trommelschlägerförmigen Sporangien des letztgenannten sind außerdem niemals zugespitzt, was bei B. fus. die Regel bildet. 3) Die Sporangienmembran haftet den reifen Sporen des B. sphaer. nur kurze Zeit an, denen des B. fus. noch nach Monaten. 4) B. fus. keimt nur polar, B. sphaer. keimt äquatorial mit einseitiger oder ringsseitiger Aufreißung der Sporenmembran. 5) Die Keimstäbchen des B. sphaer. sind im Durchschnitt um 0,1—0,2 μ breiter als die des B. fus. 6) Die Schwärmtätigkeit des B. sphaer. ist im Anfang geringer und erreicht ihren Höhepunkt zwischen 14 und 20 Stunden nach der Impfung, bei B. fus. ist sie anfangs stark, später abnehmend. Abweichend von Gottheil wurden von mir auch schwärmende Sporangien, ebenso wie bei B. sphaer. beobachtet (Fig. VIII fusiformis). 7) Die Sporen des B. sphaer. keimen nach 3—4 Stunden bei 28° auf Dextroseagar, diejenigen des B. fus. unter gleichen Bedingungen erst nach 7—8 Stunden. 8) B. sphaer. bildet auf Dextroseagar und im Kondenswasser keine vielstäbigen, vielzelligen Fäden wie B. fus. Jener bildet 20- und mehrlange Fäden nur in Nährlösungen Vα und X; die Fäden sind nur vereinzelt durchgängig septiert. B. fus. bildet dagegen auch vielstäbige vielzellige Fäden im Kondenswasser und in N.L. I u. II. 9) B. fus. wächst nur in N.L. 0—III, B. sphaer. nicht in III, außerdem aber in IV, Vα, β u. X. 10) B. fus. ist streng aërob, B. sphaer. ist fakultativ anaërob. 11) B. sphaer. bildet Alkali in N.L. IV u. Vα; B. fus. in N.L. 0—III. Zum Schluß möchte ich diesem Vergleich noch ergänzend hinzufügen, daß B. fus. entgegen den Angaben Gottheils auch auf der Kartoffelscheibe ein reichliches Wachstum zeigte. Nach 6—8 Tagen hatte sich ein bräunlich glänzender Belag gebildet, der von weiß-grauen Furchen durchzogen war. Nach 18 Tagen fanden sich zahlreiche Sporangien

und zwar ganz vorwiegend trommelschlägerförmig, ohne Spindelform. Nach 3 Wochen war der Belag mehr grau und bestand nur aus Sporen.

Wichtigste Merkmale des Bacillus sphaericus A. M. et Neide.

Sporen: Sporengröße der runden Sporen 1,2 μ im Durchschnitt, die kleinsten 0,9, die größten 1,5 μ (Fig. VIIIa 1—6). Die Sporenmembran ist dick, Exine und Intine auch ungefärbt zu unterscheiden. Die Sporen schwellen bis 1,9 μ vor der Keimung an. Sporangien: Trommelschlägerform. Die Keimung erfolgt äquatorial unter ein- und ringsseitigem Aufreißen der Membran (Fig. VIIIb 1—9). Die Keimstäbchen 1- bis 2-lang und 0,9 bis 1,3 μ breit. Auf Agar nach 14 Stunden vorwiegend sehr lebhaft schwärmende Einzelstäbchen, weniger Doppelstäbchen. Nach 18 Stunden Sporangien in der charakteristischen Trommelschlägerform, die zum Teil noch in lebhafter Bewegung sind. Nach 30 Stunden zahlreiche freie Sporen. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen IV, Vα u. β, X = 2—4, in V, Vγ, Vδ, VI, IX u. XI = 0—1 ist charakteristisch. Agarstrichkultur. Von 24—30 Stunden hauchartig durchsichtiger, von 40—72 St. ganz weicher, von der Agarfarbe kaum unterscheidbarer, flüssiger Ueberzug. Auch ältere Kulturen lassen einen Belag kaum erkennen. Kartoffelkultur: Gutes Wachstum aus dünnem, grauglänzendem Belag, der nach 4 Wochen bräunlich wird. Möhrenkultur: Schwaches Wachstum, Kolonie kaum erkennbar. Diastase- und Gasbildung findet nicht statt. Alkalibildung: N.L. IV u. Vα. Reservestoffe: Volutin. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 8'. Gramdauer in 80-proz. Alkohol bei 28°: 2'.

Bacillus alvei Krompecher.

Sehr wahrscheinlich synonym: B. alvei (Cheshire and Watson Cheyne, Journal of the R. microscopical society. Ser. II. Vol. V. Part. 4. p. 592.)

Die morphologische Aehnlichkeit des Bacillus sphaericus mit dem Bacillus alvei legte es nahe, auch den letzteren zu untersuchen. Allerdings gibt Watson Cheyne eine sehr eingehende und vortreffliche Beschreibung des Bacillus alvei, jedoch würde sie nicht genügen, den Bacillus alvei ohne physiologische Experimente von den von mir beschriebenen ähnlichen Species sicher zu unterscheiden. Der Autor selbst ist noch der Meinung, daß dieser Bacillus morphologisch einzig in seiner Art sei (p. 599). Leider stand mir die Originalkultur des Cheyneschen Bacillus nicht zur Verfügung.

Meiner Bearbeitung lag der von Dr. Krompecher-Budapest dem hiesigen Institute überlassene B. alvei zu Grunde. Gelegentlich werde ich jedoch auch auf den von Watson Cheyne beschriebenen Bacillus Bezug nehmen.

Die Sporen sind rundlich, sphaeroid, mit verschiedenen, mehr oder weniger starken Abflachungen, so daß sie mitunter schwach kantig erscheinen (Fig. IXa, 1, 2, 6—8). Sie gleichen darin den

Sporen des B. fusiformis und des B. sphaericus A. M. et N. Nur sind die Abflachungenim allgemeinen weniger zahlreich und daher auch mehr hervortretend. Bisweilen besitzen die Sporen im Querschnitte eine fast quadratische Gestalt mit abgestumpften Ecken (Fig. IXa, 3—5). Watson Cheyne bezeichnet die Sporenform seines Bacillus als largish oval (Fig. IXg, 3). Diese Gestalt nehmen die Sporen manchmal nach Anwendung der Gramfärbung, vielleicht infolge des Zusammentrocknens an. Sie ist aber in nicht angetrocknetem Zustande von mir sonst nur vor der Keimung beobachtet worden (Fig. IXa, 9, 10). Die Zeichnungen A. Kochs, welche die Sporen cylindrisch erscheinen lassen, sind vielleicht zum Teil auch auf zu starkes Antrocknen zurückzuführen (Fig. IXg, 1, 2). Cylindrische Sporen sind von mir, ebensowenig wie mittelständige gesehen worden. Die Membran der Sporen ist ungefärbt gut zu erkennen. Auch Exine und Intine lassen sich bei nicht zu jungem und zu kleinem Material ohne Färbung unterscheiden. Die Exine ist stark und sieht namentlich mit Farbstoffen häufig rauh aus, manchmal wie mit kleinen Eckchen oder Spitzen versehen. Ueber ihre Beschaffenheit gilt das von der Sporenmembran des B. sphaericus Gesagte. Die Untersuchung erfolgte in der gleichen Weise wie dort. Die Intine hat ungefähr dieselbe Breite wie die Exine.

Die Sporengröße beträgt normal 1,0—1,1 μ Durchmesser. Die größten sind 1,3—1,4 μ, die kleinsten 0,8—0,9 μ dick.

Die Keimung erfolgt nach 6—7 Stunden. Eine Anschwellung der Sporen findet nach meinen Beobachtungen nur in so geringem Maße statt, daß sie die Ausdehnung der größten Sporen wenig überschreitet (Fig. IXa, 9). In der Regel geht der Keimung eine Längsstreckung der Sporen voran. Die Sporen werden bis 1,6 μ und 1,7 μ lang und 0,8—1,0 μ breit (Fig. IXa, 10). Das Stäbchen tritt unter Durchstoßung eines Poles heraus (Fig. IXb, 1—7). Bisweilen erfolgt ein Zerreißen der Sporenmembran etwas seitlich des Poles.

Die Keimstäbchen. (1-lang = 4,25 μ.) Sie werden bis 2-lang und 0,6—0,75 μ breit (Fig. IXb, 1—7), ausnahmsweise 0,85 μ breit. Auch kommen 2-stäbige und 1- und 2-zellige Stäbchen noch mit Sporenmembran vor (Fig. IXb, 5, 6). Der Protoplast enthält Zellsaftvakuolen und rundliche, stark lichtbrechende Körper. Methylenblau v färbt die hellen Körper stark blau. Die Membran ist dünn.

Entwickelungsgang auf Dextroseagar bei 28°. 8 Stunden nach der Impfung sind Einzel- und Doppelstäbchen 1- bis 2-lang und 0,6—0,7 μ breit entwickelt. Die Einzelstäbchen sind in der Mehrzahl. Zwischen diesen Oidien finden sich in schlängelnder Bewegung vereinzelte 2—4-stäbige Fäden, sowie nicht gestäbte und unseptierte 2- bis 3-lange Einzelstäbchen (Chlorzinkjod). Diese längeren Stäbe und Fäden bilden jedoch nicht ein regelmäßiges Durchgangsstadium der Entwickelung. Mit Methylenblau k treten zahlreiche Volutanskugeln hervor (Fig. IXe, 1—8). Die großen Kugeln liegen hauptsächlich an den Polen und in der Mitte der Stäbchen, also an den Stellen, wo weiteres Wachstum

oder neue Septierung zu erwarten steht. Die kleineren Volutanskugeln sind regellos dazwischen gestreut. Nach 14 Stunden hat sich in dem Entwickelungsgang der Oidien wenig geändert. An den langen Einzelstäbchen und Fäden ist, wie bei B. sphaericus, bemerkenswert, daß die Septierung und danach folgende Stäbchenbildung häufig an einem Ende beginnt (Chlorzinkjod). Dieselbe Beobachtung hat auch Watson Cheyne bei seinem B. alvei als auffällige Tatsache angegeben (p. 593).

Der Protoplast der Stäbchen zeigt außer den Volutanskugeln noch andere streifenförmige, lichtbrechende Stellen genau von dem Aussehen der Glykogenlagerungen anderer, diesen Reservestoff bildender Species (B. asterosporus, cohaerens etc.). Mit Jodjodkalium s sehen sie bei mittlerer Einstellung grau aus und heben sich deutlich von dem schwach gelblich gefärbten Cytoplasma ab. Sie geben aber nicht die rotbraune Glykogenreaktion. Es muß unentschieden bleiben, ob diese bandartigen Streifen Glykogen oder einen anderen Reservestoff darstellen. Das Kondenswasser ist klar und enthält dieselben Entwickelungszustände des Bacillus, wie auf Agar. Nach 20—22 Stunden hat die Bildung der Sporenanlageen begonnen. Die Stäbchen werden hierzu im allgemeinen etwas breiter 0,9—1,0 μ und beginnen an einem Ende stärker zu werden. In der Regel liegt in der Mitte, seltener am Ende, eine große Volutanskugel (Fig. IX f, 1, 2). Das stärkere Ende baucht sich allmählich aus und die Volutanskugel rückt dieser Ausbauchung näher, so daß sie meist am Beginn derselben lagert (Fig. IX f, 3, 4). Während in dem nunmehr köpfchenförmigen Ende die erste Sporenanlage sich bildet, wird die Ausbauchung allmählich zugespitzt (Fig. IX f, 5). Diese fast durchgängige Zuspitzung des Sporangienkopfes kann gegenüber anderen ähnlichen Species als charakteristisches Merkmal gelten. Mit zunehmender Reife der Sporen wird der über die Spore noch herüberragende Teil des Köpfchens spitzer (Fig. IX f, 5—8) und auch das längere Ende des Stäbchens im allgemeinen schmaler (Fig. IX f 10). Mehrfach fand ich auch Sporangien mit zwei Sporen, ohne daß mit Chlorzinkjod eine Septe zwischen beiden Sporen nachweisbar war (Fig. IX f 9). Sporangien mit durchaus parallelen Seitenmembranen sind sehr selten (Fig. IX f 11). Die durchschnittliche Länge der normalen Sporangien beträgt 4,25 μ, die Breite 0,9—1,0 μ. Das Kondenswasser ist klar und hat einen geringen, weißen, feinkörnigen Niederschlag; es ist voll lebhafter Schwärmer, mit vielfach beginnender Sporenanlage. Nach 30—40 Stunden. Von 30 Stunden an finden sich freiliegende Sporen. Im allgemeinen bleibt jedoch auf Dextroseagar die Sporangienmembran ganz oder teilweise um die Sporen längere Zeit erhalten und fällt mit zunehmendem Alter mehr und mehr zusammen. Die sich in diesem Stadium noch neu entwickelnden Oidien werden meist breiter und kürzer als die normalen. Ihre Membran erscheint stärker. Ausnahmsweise beobachtete ich einmal ein in der Mitte aufgebauchtes Stäbchen (Fig. IX f 12). Nach 2—3 Tagen sind ganz vorwiegend Sporangien neben freien Sporen vorhanden. Die Sporangien weichen in der Form, in Länge und Dicke sehr von einander ab (Fig. IX f, 8, 10, 13). Zugleich finden sich jedoch noch Einzel- und Doppelstäbchen $^1/_2$- bis

1-lang. Nach 5 Tagen waren außer den letzteren bis 4-zellige Einzelstäbchen und längere 4—7-stäbige und mehrzellige Fäden entwickelt, die jedoch ungefärbt und gefärbt deutliche Anzeichen der Degeneration an sich trugen. Ebenso kamen Involutionsformen vor. Fig. IX h 1—4 gibt einige derselben aus dem Kondenswasser.

Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. Die Kolonie sieht etwas weißlicher aus und entwickelt sich rascher als auf Agar mit Dextrose. Schon nach 16—18 Stunden beginnen die Oidien Sporen anzulegen. Sie sind im Durchschnitt etwas schmaler, 0,55—0,6 μ, haben auch weniger Volutin gebildet als auf Agar mit Dextrose. Nach der Sporenreife findet der Zerfall und die Auflösung der Sporangienmembran schneller statt, so daß freie Sporen schon nach 24 Stunden auftreten.

Das Kondenswasser war in diesen Kulturen getrübt.

Beweglichkeit. B. alvei zeichnet sich durch große und langandauernde Beweglichkeit aus. Dieselbe beginnt gleich nach der Keimung und dauert fast bis zur vollen Ausreifung der Sporen in den Sporangien. Noch nach 5 Tagen sind bewegliche Oidien auf Dextroseagar zwischen den Sporen und den Involutions- und Degenerationsbildungen vorhanden. Die Geißelfärbung erfolgt nach 2—3' langem Beizen und nach gleich langer Säureviolettbehandlung ohne Erwärmen des Farbstoffes. Die Begeißelung ist peritrich. Die Geißeln sind lang und stark (Fig. IX f 14, c 5).

Agarstrichkultur. Noch 16 Stunden nach der Impfung läßt sich das Wachstum der Kolonie mit bloßem Auge oder mit der Lupe kaum wahrnehmen. Dies Aussehen bleibt bis 30 Stunden und darüber unverändert. Erst später unterscheidet man an der Grenze des Kondenswassers einen feuchten, ganz in der Farbe des Agars gehaltenen Belag, der nach 2 Tagen mit der Nadel als eine etwas weißliche, nach 3—4 Tagen etwas graugelbliche Flüssigkeit abnehmbar ist. Vom 5. Tage an wird die Kolonie wieder trockener. An über 14 Tage alten Kulturen läßt nur der weiße, allmählich antrocknende Niederschlag des Kondenswassers auf das Vorhandensein einer Kolonie schließen. Agarstichkultur. Nach 3 Tagen war im Stich eine Reihe weißer, feinkörniger Kolonieen bis zum Grunde des Agars gewachsen. Erst nach 10 Tagen hatte sich auf der Oberfläche eine gelbliche Kolonie gebildet, welche trocken, wenig glänzend vom Agar sich abhob und in allmählicher Ausdehnung nach 4 Wochen über die ganze Oberfläche sich verbreitete. Im Stich war nach dieser Zeit nur ein geringes Wachstum der Kolonieen zu bemerken. Gelatineplatte. Nach 6 Tagen erst wurden silbergraue, runde, in der Mitte und am Rande stark gekörnte Kolonieen sichtbar. Nach 8 Tagen wurden sie makroskopisch weiß. Sie enthielten ganz vorherrschend Doppelstäbchen, weniger Einzelstäbchen, welche dicker und kürzer als auf Dextroseagar waren und zahlreiche Volutanskugeln enthielten. Zum Teil hatten sie die keulenförmigen Anschwellungen vor Beginn der Sporenanlagen. Wurzelartige Ausläufer habe ich auf 3 zu verschiedenen Zeiten angesetzten Platten nicht gefunden. Nach 10 Tagen trat bei viel Material Verflüssigung ein. Gelatinestich. Nach 6 Tagen wurden

die ersten Kolonieen im Stich als weiße, einzelne Körnchen sichtbar. Auf der Oberfläche entwickelte sich nach 10 Tagen eine silbergraue Kolonie, die sich in den nächsten Tagen schnell über die ganze Röhrchenbreite ausdehnte und nach 16 Tagen in die Gelatine von oben hineinwuchs. Nach 4 Wochen waren die Kolonieen im Stich unverändert. Erst nach 2 Monaten trat Verflüssigung ein. Nach 4 Monaten reichte dieselbe 4 cm tief. Die Flüssigkeit war klar mit weißem, feinkörnigem Bodensatz. Kartoffelscheibe. Erst nach 12 Tagen wurde ein weißgrauer, dünner Belag erkennbar. Er enthielt nur vereinzelte Stäbchen und bestand fast ausschließlich aus Sporangien und reifen, noch mit der Sporangienmembran umgebenen Sporen. Aussehen und Zusammensetzung der Kolonie blieben auch nach 4 Wochen noch gleich. Möhrenscheibe. Das Wachstum ist nur ein spärliches, auch auf dreimal gewechseltem Nährsubstrat. Eine Kolonie auf der Möhrenscheibe ist makroskopisch nicht wahrzunehmen. Mikroskopisch fanden sich nach 12 Tagen wenige bis 3-lange Stäbchen, Sporangien und freie Sporen. Das Aussehen der Möhrenscheibe änderte sich auch nach 4 Wochen nicht.

Entwickelungsgang in Nährlösungen.

B. alvei Kr. keimt in Nährlösung I und Vα.

In N.L. I nach 3 Tagen bewegliche Einzel- und Doppelstäbchen von normaler Größe mit wenig Volutanskugeln. Nach 6 Tagen noch keine Sporangien. Einzelne Stäbchen waren 6- bis 7-lang und 0,6 μ breit. Die Flüssigkeit blieb auch nach 10 Tagen noch klar, hatte oben ein dünnes, lose gefügtes Häutchen und einen weißen, staubförmigen Niederschlag. Sporangien und Sporen waren auch jetzt noch nicht gebildet. N.L. Vα. Nach 3 Tagen enthielt die Lösung bewegliche Doppelstäbchen mit 2- bis 3-langen Stäben und ungestäbte oder septierte bis 4-lange Fäden. Die Stäbchen haben Volutanskugeln. Nach 5 Tagen sind zahlreiche Sporangien und einzelne freie Sporen entwickelt. Nach 10 Tagen hat sich auf der getrübten Flüssigkeit ein lose gefügtes Häutchen, am Boden ein wolkiger weißer Niederschlag gebildet.

Wachstum in Nährlösungen nach 4 Wochen bei 28°: N.L. 0: Lösung klar mit weißem, wolkigem Absatz. Hauptsächlich Doppelstäbchen und 3—4-stäbige Fäden, deren Stäbe 2- bis 3-lang und 2—3-zellig sind. Große Volutanskugeln. Keine Sporen. I: Lösung leicht getrübt mit graugelbem Ansatz. Wenig Einzelstäbchen, vorwiegend Doppelstäbchen mit 1- bis 2-langen, 1- oder 2-zelligen Stäben. Auch finden sich 3—4-stäbige, je 2- bis 3-lange Fäden mit zahlreichen Volutanskugeln. — II: Klare Lösung mit dickem, bräunlichem, flockigem Niederschlag. Auf der Oberfläche ein lose gefügtes Häutchen. Dicke zu Involutionsformen neigende Einzel- und Doppelstäbchen, sowie Fäden von ähnlicher Beschaffenheit wie in den vorigen Nährlösungen — III: Nur schwache Entwickelung mit 1- bis 3-langen Einzelstäbchen. — Vα: Lösung milchig getrübt mit wolkigem Niederschlag und weißem Häutchen. Viele freie Sporen neben zahlreichen Sporangien und bis 4-langen, zum Teil degenerierten Fäden. Starke Alkalibildung. IX: Lösung klar mit weißem, feinflockigem Niederschlag. Einzelstäbchen, Sporangien und Sporen. Stark Volutin. Säure. — In IV, V, Vβ, VI, VIII, X und XI kein Wachstum.

Intensitätstabelle.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
3	4	4	0—1	0	0	4	0	0	0	0	0—1	0	2	0	0

Alkalibildung findet statt in N.L. Vα. Indikator Dimethylamidoazobenzol. 10 ccm N.L. Vα = 0,1 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Entwickelung in Vα bei 28° 1) nach 8 Tagen 10 ccm = 4,53 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 2) nach 14 Tagen

10 ccm = 6,95 ccm $^1/_{10}$ N.Schw. 3) nach 4 Wochen 10 ccm = 7,14 ccm $^1/_{10}$ N.-Schw. Säurebildung nur in Reagensröhrchen.

Reservestoffe. Volutin. Diastasebildung in N.L. Vα fehlt. Gasbildung findet nicht statt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 12'. Gramdauer: 6—7'.

Die Beziehungen des Bacillus alvei Kr. zu B. sphaericus A. M. et Neide.

Die Aehnlichkeiten der beiden Species beruhen 1) auf der Form und Größe der runden Sporen, 2) auf der Tommelschlägerform der Sporangien, 3) in der schnellen Entwickelung von Spore zu Spore, 4) in dem Mangel an Fadenbildung auf Dextroseagar, 5) in der großen Beweglichkeit, 6) in der Bildung des Volutin als Reservestoff. Die Unterschiede sind: 1) der im Durchschnitt um 0,1—0,2 μ kleinere Durchmesser der normalen Sporen des B. alvei, 2) die größere Länge ca. 4,25 μ und die geringere Breite 0,6—0,75 μ, sowie die dünnere Membran der Oidien des B. alv. gegenüber einer Durchschnittslänge von 3,8 μ und einer Durchschnittsbreite von 0,9 bis 1,3 μ der Oidien des B. sphaer., 3) die Köpfe der Sporangien des B. alv. sind in der Regel zugespitzt, diejenigen des B. sphaer. abgerundet, die Zellen der Sporangien des B. alv. auffallend schmaler, 4) B. sphaer. zeigt gutes Wachstum und Alkalibildung in N.L. IV und sehr gutes in Vβ und X, B. alv. gedeiht in diesen Nährlösungen nur äußerst schwach oder gar nicht.

Die wichtigsten Merkmale des Bacillus alvei Krompecher.

Spore: Sporenform rund mit verschieden ausgeprägten Abflachungen (Fig. IXa 1—6). Sporengröße: normal 1,0—1,1 μ im Durchmesser. Die reifen Sporen vielfach noch mit Sporangienmembran umgeben. Die Sporenmembran ist ungefärbt, Exine und Intine ebenso bei größeren und älteren Sporen zu erkennen. Vor der Keimung strecken sich die Sporen gewöhnlich in die Länge. Die Keimung erfolgt polar (Fig. IXb 1—7). Die Keimstäbchen werden bis 2-lang und 0,6—0,7 μ breit. Auf Dextroseagar sind nach 14—18 Stunden vorwiegend Einzel- und Doppelschwärmer vorhanden (Fig. IXc, e). Vor der Sporenbildung befindliche Stäbchen werden in der Regel breiter 0,9—1,0 μ. Nach 20—22 Stunden Sporangienbildung mit Trommelschlägerform (Fig IXf 3—8). Charakteristischerweise sind diese am Ende des Köpfchens meist zugespitzt. Auch die Sporangien schwärmen noch. Stäbchen und Sporangien haben peritriche Begeißelung (Fig. IXc 5, f 14). Nach 30—36 Stunden finden sich freie Sporen, doch bleibt die Sporangienmembran bei vielen lange erhalten. Die Intensität des Wuchses in den Nährlösungen Vα = 4, IV, V, Vβ—δ und X = 0 ist charakteristisch. Agarstrichkultur: Die Kolonie ist nach 1 Tage nur durch feuchtes Aussehen des Agar-Nährbodens wahrnehmbar. Nach 48 Stunden läßt sie sich als weißliche Flüssigkeit mit der Nadel abnehmen. Nach 4—5 Tagen wird sie wieder trockener und ist wenig

von der Agarfläche zu unterscheiden. Kartoffelkultur. Erst nach 12 Tagen weißgrauer dünner Belag, der sein Aussehen in den nächsten 2--3 Wochen wenig ändert. Möhrenkultur: Nur sehr spärliche Entwickelung weniger Stäbchen und Sporangien. Alkalibildung in Nährlösung Vα. Reservestoffe: Volutin. Diastasebildung in Nährlösung Vα nicht vorhanden. Gasbildung fehlt. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Abtötungszeit der Sporen bei 100°: 12′. Gramdauer: 6′—7′.

Gruppierung der bisher im hiesigen botanischen Institut beschriebenen Species der Gattung Bacillus.

Der Vergleich der morphologischen, biologischen und physiologischen Eigenschaften der bisher beschriebenen Species läßt in jeder der drei Richtungen Gesichtspunkte gewinnen, nach welchen eine Einteilung der Species in gewisse Gruppen zu ermöglichen ist.

I. In morphologischer Beziehung läßt sich, als eine der konstantesten Erscheinungen, die Sporenform, demnächst die Fadenbildung der Einteilung zu Grunde legen.

1) Einteilung der Species der Gattung Bacillus nach der Sporenform.

a) Bakterien mit cylindrisch-stäbchenförmigen Sporen, deren Längsdurchmesser mehr als doppelt so lang ist, wie der Querdurchmesser: Bacillus subtilis C., B. pumilis, B. parvus, B. lacticola.

b) Bakterien mit cylindrisch-walzenförmigen Sporen, deren Längsdurchmesser doppelt so lang und kürzer ist wie der Querdurchmesser: Bacillus asterosporus, B. cohaerens, B. teres, B. lactis Flügge.

c) Bakterien mit ellipsoiden Sporen, deren Längsdurchmesser mehr als doppelt so lang ist wie der Querdurchmesser: Bacillus Ellenbachensis, B. graveolens, B. mycoides, B. Petasites, B. ruminatus, B. tumescens.

d) Bakterien mit ovalen oder ovoiden Sporen, deren Längsdurchmesser doppelt so lang und kürzer ist, als der Querdurchmesser: Bacillus carotarum Koch, B. simplex, B. megatherium, B. robur, B. silvaticus.

e) Bakterien mit runden oder sphäroiden Sporen: Bacillus fusiformis, B. sphaericus, B. alvei.

2) Einteilung der Species nach der Fadenbildung auf Dextroseagar.

a) Bakterien, welche keine Fäden bilden: Bacillus asterosporus, B. pumilis, B. fusiformis, B. alvei, B. sphaericus, B. parvus.

b) Fadenbildende Bakterien. Hierzu gehören die vorstehend nicht aufgeführten, von Gottheil und mir beschriebenen Species.

II. Einteilung der Species in biologischer Beziehung, nach der Dauer der Entwickelungszeit von Spore zu Spore, wenn von genau 1′ abgekochtem Sporenmaterial ausgegangen und die Kultur auf Dextroseagar bei 28° gehalten wird.

1) Bakterien mit kurzer Entwickelungszeit bis 24 Stunden: Bacillus asterosporus, B. Petasites, B. ruminatus, B. tumescens, B. megatherium, B. silvaticus, B. sphaericus, B. alvei.

2) Bakterien mit mittlerer Entwickelungszeit von 24 Stunden bis 3 Tagen: Bacillus simplex, B. subtilis, B. Ellenbachensis, B. graveolens, B. robur, B. teres, B. lactis Flügge, B. lacticola, B. parvus.

3) Bakterien mit langer Entwickelungszeit, über 3 Tage: B. carotarum, B. cohaerens, B. pumilis.

III. Einteilung der Species in physiologischer Beziehung:

1) Nach Art der Reservestoffbildung. Es bilden:

a) Nur Fett: B. graveolens, B. mycoides, B. Petasites, B. ruminatus, B. tumescens, B. megatherium, B. silvaticus.

b) Nur Glykogen: B. carotarum, B. cohaerens, B. simplex, B. subtilis, B. teres.

c) Nur Volutin: B. fusiformis, B. alvei, B. sphaericus.

d) Fett und Volutin: B. Ellenbachensis, B. lactis Flügge und B. lacticola.

e) Glykogen und Volutin: B. asterosporus und mit Spuren B. sphaericus.

f) Fett, Glykogen und Volutin: B. robur.

e) Keine sicher nachweisbaren Reservestoffe: B. pumilis, B. parvus.

2) Nach Art der Alkali- und Säurebildung in den verschiedenen Nährlösungen. Es bilden:

a) Alkali nur in Asparaginlösungen, nicht in peptonhaltigen Lösungen: B. carotarum, B. simplex, B. subtilis, B. Petasites, B. pumilis, B. robur, B. megatherium, B. teres, B. sphaericus, B. alvei.

b) Alkali nur in peptonhaltigen Lösungen, nicht in Asparaginlösungen: B. fusiformis, B. Ellenbachensis, B. mycoides.

c) Alkali zugleich in peptonhaltigen Lösungen und in Asparaginlösungen: B. cohaerens, B. lactis Flügge, B. lacticola, B. silvaticus, B. parvus.

d) Säure- in Asparaginlösungen: B. graveolens, B. ruminatus, B. tumescens.

e) Säure in peptonhaltigen Lösungen und Alkali in Aparaginlösungen: B. megatherium, B. robur, B. parvus.

Zum Schluß möchte ich noch auf einige auffallende Beziehungen zwischen äußeren Kulturmerkmalen und morphologischen bezw. physiologischen Eigenschaften hinweisen:

1) Die Agarstrichkulturen derjenigen Species, welche eine Trommelschlägerform der Sporangien besitzen, sind dünn, glasig, fast feucht wässerig. Es gilt dies von B. asterosperus, B. fusiformis, B. alvei, B. sphaericus. Alle diese Species bilden außerdem Volutin.

2) Die Agarstrichkulturen der Species: B. ruminatus, B. megatherium und B. silvaticus werden vom 2. Tage nach der Impfung an rosabräunlich und färben den Dextroseagar stark braun. Alle diese Species besitzen große ellipsoide bezw. ovale Sporen und bilden kein Volutin.

Die Arbeit ist im botanischen Institute der Universität Marburg unter der Leitung des Herrn Professor Arthur Meyer in den Jahren 1902 und 1903 ausgeführt worden.

Tafelerklärung.

Vergrößerung 1 : 2350. Abweichungen sind jedesmal besonders bemerkt. In den Zeichnungen der Stäbchen bedeuten die dunklen Punkte Volutinkörnchen, die Kreise Fetttropfen, die schattierten Stellen Glykogen (z. B. Fig. IVd 1). In dem Schemata für die Morphologie der Fäden und Oidien, wie Fig. Id 1, bedeuten die Bogen Stäbchenenden, die Striche Septen.

Tafel I.

I. Bacillus megatherium. a) Sporen. Normal 1—7. Ausnahmen 8—11. Querschnitt 12. Anschwellung vor Keimung 13. — 1, 5, 7, 9, 12 Fuchsin v; 2, 3 ungefärbt; 4, 8, 10 Methylenblau k. b) Keimstäbchen mit polarer Keimung 1, 4, 5, 6; äquatorial 2, 3. — 1, 2 ungefärbt, 3—6 Methylenblau k. c) 7—9-stündige Kultur. — 1, 2 ungefärbt, 3 Methylenblau k. d) 18—20-stündige Kolonie. 1—5 Methylenblau K; 1 = Maßstab 1:900. — 30-stündige Kolonie 6, 7. Methylenblau K. — 8 Geißelfärbung nach 13maligem Umimpfen, zuletzt auf Agar o. D. — 9—11 40-stündige Kolonie. Methylenblau k. — 12, 13 Oidien und Sporangien von Agar ohne Dextrose. Methylenblau k.

II. Bacillus robur. a) 1—11 Sporen. 1, 5, 9 Methylenblau k, 2—4, 6—8, 10, 11 Fuchsin v. — 12 angeschwollene Spore vor der Keimung Methylenblau k. — 13 Querschnitt Fuchsin v. — b) Keimung 1—4. 1, 2 ungefärbt, 3, 4 Fuchsin v. c) 14-stündige Kolonie 1—5. 1, 2 ungefärbt, 3, 4 Methylenblau k, 5 Geißelfärbung. d) 24-stündige Kolonie 1—5. 1, 2 Jodjodkalium s, 3—5 Methylenblau k. e) 36—48-stündige Kolonie 1—4. Methylenblau k. 4 = Maßstab 1:900. f) 24-stündige Kolonie auf Agar o. D. 1, 2. Fuchsin v.

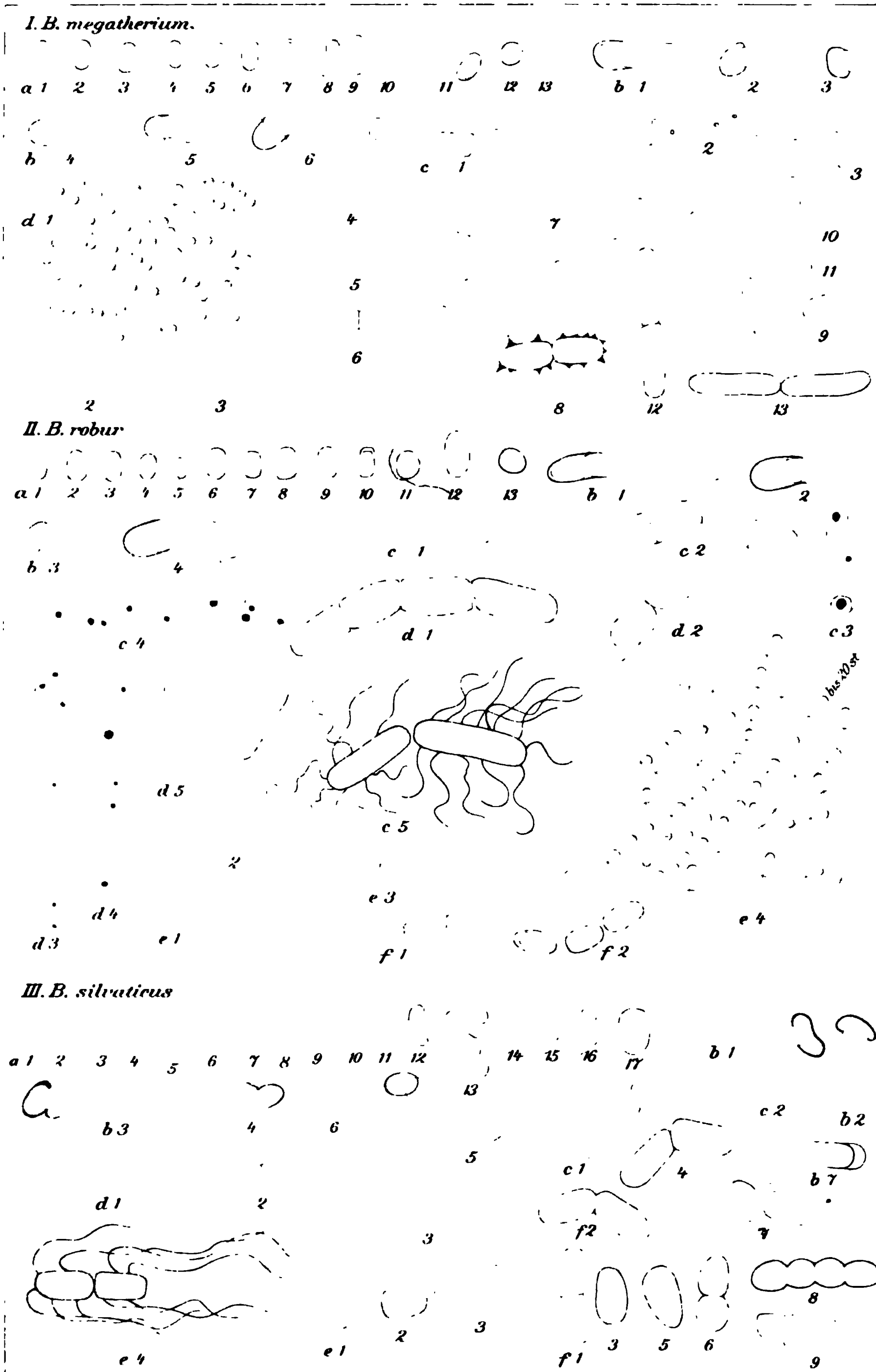
III. Bacillus silvaticus a—f. a) Sporen 1—17; 1—9 normal; 1, 2 Safranin, 3—9 Methylenblau k und ungefärbt; 10—13 seltene Formen. Methylenblau k. 14—16 Durchschnittsgröße der Sporen aus dem ursprünglichen Waldboden, ungefärbt. 17 Anschwellung vor der Keimung, Methylenblau k. b) Keimung 1—6 äquatorial, Methylenblau v; 7 polar, ungefärbt. c) 5—6-stündige Kolonie; 1, 2 ungefärbt. d) 8—9-stündige Kolonie; 1—3 ungefärbt. e) 14-stündige Kolonie 1—4. 1 und 3 Methylenblau k. 2 Fuchsin v; 4 Geißelfärbung. f) 20—22-stündige Kolonie 1—9 Fuchsin, mit Ausnahme von 7, 9, welche mit Jodjodkalium s gefärbt sind.

Tafel II.

III. Bacillus silvaticus g—i. g) 30—40-stündige Kolonie 1—4. Fuchsin v. 4 = Maßstab 1 : 900. h) 20-stündige Kolonie von Agar ohne Dextrose. Methylenblau k. i) Involutionsformen aus Nährlösung VI nach 4 Wochen, Methylenblau k.

IV. Bacillus teres. a) Sporen 1—10, normal, 1—3 Fuchsin, 4—6 ungefärbt; seltener 7—9, Querschnitt 10 Jodjodkalium s. 11 Anschwellung vor Keimung Methylenblau k. b) Keimung 1—7, polar 1, 2, äquatorial 3, 4 ungefärbt; 5, 6, 7 Methylenblau v. c) 14-stündige Kolonie 1—4. 1—3 Methylenblau k. 3 = Maßstab 1:900. 4 Geißelfärbung. d) 24-stündige Kolonie 1—6. 1, 3 Jodjodkalium s; 2, 4, 6 Methylenblau k; 7 36-stündige Kolonie Jodjodkalium s. e) 48-stündige Kolonie 1—14. 1 = Maßstab 1:900, 2—4 ungefärbt, 5 Methylenblau k, 6 Fuchsin v, 8—10 Jodjodkalium s, 11—16 Methylenblau k. f) Kolonie auf Agar ohne D. 1—2. 1 = 20-stündig, 2 = 24-stündig. Jodjodkalium s.

V. Bacillus lacticola. a) Sporen 1—17; cylindrisch 1—8 ungefärbt und Safranin; elliptisch 9—11 Safranin; 12—14 bohnenförmig; 15 Querschnitt ungefärbt; 16 nach Gram; 17 Anschwellung Methylenblau k. b) Keimung 1—6.



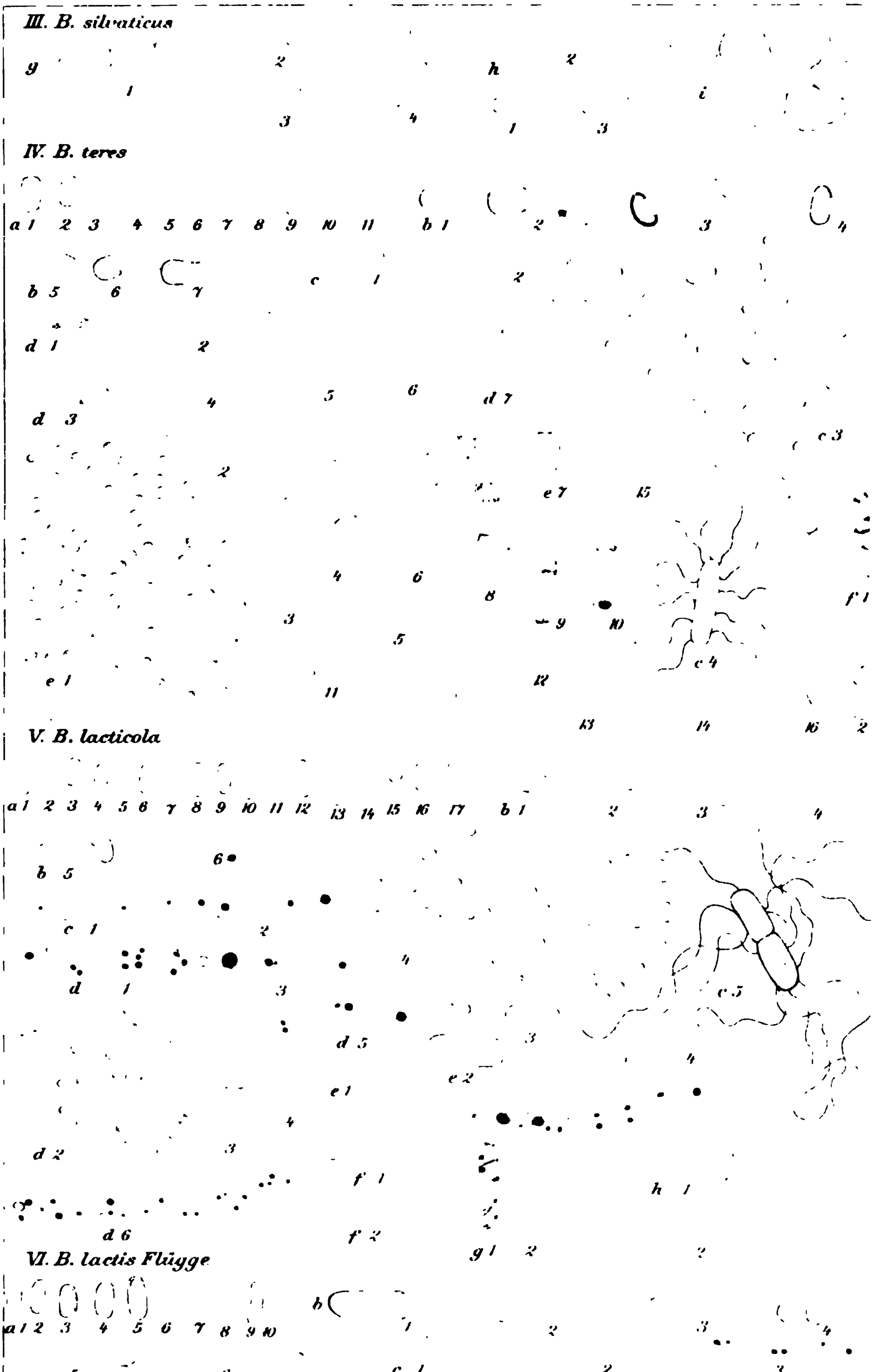
Mstb. 1 : 2350 — 0 5 10 20 μ

Mstb. 1 : 900 — 0 5 10 20 30 40 50 μ

Neide gez.

Lith Anst v K Wesser, Jena.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.



Mstb. 1 : 2350 Mstb. 1 : 900

Neide gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.



Mstb. 1 : 2350

Mstb. 1 : 900

Neide gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena

1, 2 ungefärbt, 3—6 Methylenblau v. c) 12—14-stündige Kolonie. 1—5 Methylenblau k. 4 = Maßstab 1:900. 5 Geißelfärbung. d) 20—24-stündige Kolonie 1—6. 1, 2, 5, 6 Methylenblau k, 3, 4 Jodjodkalium s. e) 36—40-stündige Kolonie 1—4. 1 Methylenblau k, 2—4 ungefärbt. f) 48-stündige Kolonie 1, 2 Ausnahmeformen Fuchsin v. g) Kolonie von Agar ohne Dextrose 1 = 14-stündig; 2 = 24-stündig, Jodjodkalium s. h) Involutionsformen aus Nährlösung Vδ, nach 4 Wochen; 1, 2, Jodjodkalium s.

VI. Bacillus lactis Flügge a—c 3. a) Sporen 1—10. 1, 6—10 Methylenblau k; 2—5 Fuchsin v bezw. Safranin; 10 Anschwellung vor Keimung Methylenblau k. b) Keimung 1—6. 1, 3—5 Methylenblau v; 2, 6 ungefärbt. c) 8-stündige Kolonie 1—5. 1, 2 ungefärbt, 3 Methylenblau k.

Tafel III.

Bacillus lactis Flügge c, 4—e. c) 8-stündige Kolonie. 4 = Maßstab 1:900. 5 14-stündige Kolonie Geißelfärbung. d) 14-stündige Kolonie 1—7. 1 = Maßstab 1:900; 1—5 Methylenblau k; 6 Jodjodkalium s; 7 ungefärbt. e) 36—40-stündige Kolonie 1—10. 1, 7, 9, 10 Methylenblau k; 2—6, 8 Fuchsin v. f) Kolonie von Agar ohne Dextrose 1—3. 1 = 15-stündig Methylenblau; 2, 3 = 24-stündig Jodjodkalium s.

VII. Bacillus parvus. a) Sporen 1—13; cylindrisch 1—9, oval 10, 11, ungefärbt und mit Fuchsin v. Anschwellung vor Keimung 12, 13. b) Keimung 1—6; 1—4 Methylenblau v, 5, 6 ungefärbt. c) 24-stündige Kolonie 1—8; 1—3 Fuchsin v; 4 = Maßstab 1:900 Methylenblau k; 5, 6 ungefärbt; 7 Jodjodkalium s; 8 Geißelfärbung. d) 36—40-stündige Kolonie 1—10. 1—6 Methylenblau k; 7—9 Fuchsin v; 10 Jodjodkalium s. e) Involutionsformen 1—3, 1 aus Nährlösung Vβ, 2, 3 aus Nährlösung Vδ nach 4 Wochen.

VIII. Bacillus sphaericus. a) Sporen 1—9; 1—6 Safranin, 7, 8 aus ursprünglichem Nährboden ungefärbt. 9 Anschwellung vor Keimung Safranin. b) Keimung 1—9; 1, 3, 4, 6—9 Methylenblau v; 2, 5 ungefärbt. c) 8-stündige Kolonie 1—5 Methylenblau k, 5 = Maßstab 1:900. d) 14-stündige Kolonie 1—7. 1—5 Methylenblau k; 6 und 7 Geißelfärbung. e) 22—24-stündige Kolonie 1—8; 1, 2 Methylenblau k; 3, 4 Jodjodkalium s; 5, 6 Fuchsin v; 7 schiffchenförmige Form Methylenblau K; 8 Doppelsporangien, Fuchsin v. f) Bacillus fusiformis. Sporen und Sporangien mit Begeißelung.

IX. Bacillus alvei. a) Sporen 1—10. 1, 2, 3, 5 Safranin; 4, 6, 7, 8 Methylenblau K; 9 Fuchsin v; 10 Anschwellung vor Keimung Methylenblau k. b) Keimung 1—7. 1, 2, 4, 7 ungefärbt, 3, 6 Methylenblau v, 5 Jodjodkalium s. c) 8-stündige Kolonie 1—5, 1 = Maßstab 1:900, 2—4 ungefärbt; 5 Geißelfärbung. e) 14-stündige Kolonie 1—5. Methylenblau k. f) 20—22-stündige Kolonie 1—13 Methylenblau k. 14 Geißelfärbung; 15, 16 Färbung nach Gram; 12—13 30- bis 40-stündige Kolonie Methylenblau k. g) 1, 2 A. Kochs Zeichnungen 1:1200; 3 Watson Cheyne Sporenzeichnung. h) Involutionsformen aus dem Kondenswasser nach 5 Tagen 1—4. Methylenblau k und Chlorzinkjod.

Literatur.

de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. 1884.
Bienstock, B., Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1899.)
Botkin, Ueber einen Bacillus butyricus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892.)
Bunge, Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. Bd. XIII. 1895.)
Chesire, F. u. Watson Cheyne, Journal of the Royal Microsc. Society. Ser. II. Vol. V. Part. 4. 1885.
Ellis, D., Beiträge zur Kenntnis der Coccaceen und Spirillaceen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Bd. XXXIII. 1902/03.)
Ernst, P., Ueber Kern und Sporenbildung bei Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889.)
—, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 1897.
Flügge, C., Die Mikroorganismen. 1896.
—, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894.)
Gottheil, Otto, Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)

Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)
Heinze, Berthold, Ueber die Beziehungen der sogenannten Alinitbakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
Koch, Alfred, Ueber Morphologie und Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bakterienformen. (Bot. Ztg. 1888. No. 18.)
Klein, L., Botanische Bakterienstudien. I. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1889.)
Kolkwitz, Beiträge zur Kenntnis der Erdbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
Lehmann u. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakterienkunde. (Lehrbuch der spez. bakteriol. Diagnostik. 1896.)
Lembke, Weiterer Beitrag zur Bakterienflora des Darmes. (Archiv f. Hyg. Bd. XXIX. 1897.)
—, Beiträge zur Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien. Diss. 1897. (Arbeit. aus dem bakt. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. II. 1898. Heft I.)
Meyer, Arthur, Neues über die Morphologie der Bakterienzelle und die Entwickelungsgeschichte der Bakteriensporen. (Sitzungsber. d. Gesellschaft z. Bef. der Naturwissenschaften. Marburg. 1897.)
—, Studien über die Morphologie u. Entwickelungsgeschichte der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXIV. Ergbd. 1892.)
—, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kern und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
— Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903.
Messea, A., Referat. Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891.
Migula, System der Bakterien. Bd. I. 1897; Bd. II. 1900.
Severin, S., Ein Beitrag zur Alinitfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)

Ueber den Einfluss der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwickelung der Schimmelpilze.

Von **M. Nikolski,** Warschau.

Mit 22 Figuren.

I.

Bezüglich des Wertes der verschiedenen Kohlenhydrate als Nährmittel für die Entwickelung der Schimmelpilze hat die betreffende Spezialliteratur bis heute nur sehr wenig anzuführen. Die sehr wichtige Rolle, welche der Rohrzucker in dem Entwickelungsprozesse der niederen Organismen spielt, ist schon von Pasteur durch seine Versuche mit Alkoholgärung[1]) festgestellt worden.

Pasteur hatte die Hefen auf der künstlichen Nährflüssigkeit, die von Saccharose, weinsaurem Ammonium und den in den Bau der Bierhefezellen hineingehenden Mineralsalzen zusammengesetzt wurde, kultiviert. Er erhielt eine schöne Entwickelung der ausgesäten Hefen, durch die Zuckergärung und allmähliches Verschwinden der Ammonium- und Mineralsalze von der Kulturflüssigkeit begleitet. Die Entwickelung wurde fast vollständig auf-

1) Mémoire sur la fermentation alcoolique. (Ann. de chimie et de physique. 3. série. T. LVIII. p. 382, 384, 393.)

gehalten, wenn irgend etwas von den oben genannten Bestandteilen in der Lösung fehlte.

Später hatte Pasteur ähnliche künstliche Substrate für Versuche über die Entwickelung der Bakterien und Schimmelpilze angewendet. Van Tieghem benutzte sie für Studien über Ammoniak- und Gerbstoffsäuregärung. Die Ergebnisse stimmten mit den vorigen überein [1]).

Spätere Untersuchungen Van Tieghems über die Myceliumentwickelung von einigen Schimmelpilzen haben erwiesen, daß der Rohrzucker in den Kulturen durch Tannin ersetzt werden kann; ferner ergab sich, daß Jodin in seinen Versuchen mit der Entwickelung der verschiedenen Organismen den Rohrzucker durch Glycerin und Milch-, Essig-, Wein-, Oxal- und Bernsteinsäuren erfolgreich ersetzen konnte.

Unter den chemischen Prozessen, die dabei in Kulturflüssigkeiten entstehen, hat Jodin seine größte Rücksicht genommen auf die Oxydation der „compositions ternaires“ vom Luftsauerstoffe, sowie auf die Zuckerinversion, welche die Entwickelung der Organismen begleitet; doch muß bemerkt werden, daß seine Resultate eine weit größere Bestimmtheit und bedeutenderen Wert erworben hätten, wenn die Versuche mit Reinkulturen ausgeführt worden wären [2]).

Die Pasteursche Entdeckung wurde von Raulin bestätigt. Der Zuckerzusatz zu der aus Weinsäure, Stickstoffelementen und Mineralsalzen bestehenden Kulturflüssigkeit hatte eine Zunahme der Trockensubstanz (es wurde Aspergillus niger kultiviert) im Verhältnisse 65:1 verursacht, wobei auf 80 g zugesetzten Zuckers nur 17,43 g Zuwachs an Trockensubstanz erhalten wurde, so daß das Verhältnis des Zuckergewichts zu der aus ihm sich bildenden organischen Substanz $= \frac{80}{17,43} = 4,6$.

Außerdem hatte Raulin die Versuche mit verschiedener Zuckerkonzentration in der Nährsalzlösung unternommen. Letztere haben erwiesen, daß bis an Konzentration 15 g auf 1 l die Trockensubstanz des Aspergillus niger zunimmt und zwar fast proportionell zu dem in der Kulturflüssigkeit sich enthaltenden Zucker. Diese Zunahme wird etwas verhindert bei weiterem Zuckerkonzentrieren, bis ungefähr 119 g auf 1 l Kulturflüssigkeit. Jedes weitere Konzentrieren hat schon die Abnahme der Trockensubstanz zur Folge gehabt. Es kann wahrscheinlich kein Weiterleben unter so hohem osmotischen Drucke stattfinden. Dieselben Versuche haben auch erwiesen, daß ein Zusatz von 10 g Zucker zu der ihn nicht enthaltenden Kulturflüssigkeit eine Zunahme von 3,2 g in der Trockensubstanz verursacht, so daß das Minimalverhältnis des ver-

1) Pasteur, Mémoire sur les corpuscules organisés qui éxistent dans l'atmosphère. (Ann. de chimie et de physique. 3. série. T. LXIV. p. 107.) — Raulin, Études chimiques sur la végétation. (Ann. des sciences naturelles. 5. série. T. XI. 1869. p. 179.)

2) Raulin, l. cit. p. 180. Comptes rendus. T. LIV. p. 917. T. LIII. p. 1252. T. LV. p. 612. T. LVII. p. 434.

brauchten Zuckers zu der gebildeten Trockensubstanz des Pilzes als $\frac{10}{3,0} = 3,1$ [1]) ausgedrückt werden kann.

Pasteur und andere zu gleicher Zeit tätige Forscher hatten nur allgemeine Anfangsstudien zur Frage des Verhaltens der niederen Organismen zu den verschiedenen zu ihrer Ernährung dienenden organischen Verbindungen demonstriert. Dagegen verdienen Raulins Untersuchungen, infolge ihrer streng wissenschaftlichen Bearbeitung und genauen analytischen Angaben, eine besondere Berücksichtigung.

Duclaux[2]) hat bewiesen, daß bei der Entwickelung von Aspergillus niger auf der zuckerenthaltenden Kulturflüssigkeit fast die Hälfte und sogar mehr verbrauchten Zuckers an ersten Entwickelungsstufen zum Bau der Trockensubstanz dient, und erst später das Verhältnis $^1/_3$ (33 Proz.) wird, welche Zahl bis zur Fruchtbildungsperiode zu beobachten ist. Der Rohrzucker scheint nach Duclaux das beste Nährmittel für Aspergillus niger zu sein. Es wurden noch die Laktose und die Stärke in Bezug auf ihren Nährwert für A. niger von Duclaux untersucht, und es hat sich ergeben, daß die Laktose nur für die erwachsene Form als Nährstoff dienen konnte. Selbst in diesem Falle ist die Saccharose der Laktose vorzuziehen; war doch die letztere für die jungen Gewebe als Nährstoff untauglich, wie sich ergab. Was nun die Stärke anbetrifft, so konnte sie in Kleisterform die Saccharose gut ersetzen, in rohem Zustande war sie jedoch für die Entwickelung des genannten Pilzes untauglich und konnte nur teilweise von der erwachsenen Form verbraucht werden. Also hatte erst Duclaux die Nährbedingungen der Organismen auf den verschiedenen Stufen ihres Entwickelungsprozesses beobachtet und außer der schon untersuchten Saccharose die Nährwerte einiger anderen organischen Verbindungen untersucht (von den Kohlenhydraten Laktose und Stärke). Doch muß bemerkt werden, daß der Mangel an analytischen Zahlenangaben einen großen Nachteil für den reichen Inhalt der „Traité de microbiologie“ bedeutet.

Man kann noch eine Reihe von den diese Frage mehr oder weniger anbetreffenden Werken zitieren. So haben Wehmers Untersuchungen über den Mucor Rouxii[3]) erwiesen, daß der genannte Pilz am besten auf Maltose und am schlechtesten auf Saccharose und Laktose gedeiht. Galaktose und Lävulose nehmen eine Zwischenstellung ein. Die relative Größe des entwickelten Myceliums hatte man nur ungefähr abgeschätzt. Zur gleichen Zeit hat Wehmer noch Mucor jawanicus[4]), Rhizopus oryzae, und Mucor dubius[5]) untersucht. Die Entwickelung des ersten

1) Raulin, l. cit. p. 277—278.

2) Alimentation hydrocarbonée. (Traité de microbiologie. T. I. 1898.)

3) Wehmer, Die chinesische Hefe und der sogenannte Amylomyces (= Mucor Rouxii). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900.)

4) Wehmer, Der javanische Ragi und seine Pilze. I. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1900.)

5) Wehmer, Der javanische Ragi und seine Pilze. II. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1901.)

von den oben genannten Pilzen auf Dextrose, Saccharose und Stärke erschien ziemlich gut, während Laktose ein sehr schlechtes Nährmittel für ihn sowie für Mucor dubius darstellte.

Die Entwickelung des Rhizopus oryzae geschah, außer den angeführten, ebenso auf Maltose und Dextrin mit gutem Erfolge. Mucor cambodja[1]) entwickelte sich nach den Untersuchungen Chrząszers am besten auf Dextrose und Maltose, während Saccharose und Laktose nur sehr wenig ihn ernähren konnten.

Went hat noch Monilia sitophila[2]) bezüglich ihrer Entwickelungsfähigkeit auf verschiedenen Nährböden untersucht. Es ergab sich also, daß der letztgenannte Pilz am liebsten auf Raffinose, Maltose und Stärke wächst, während Fruktose nur in dem Falle für seine Entwickelung taugt, wenn sie technisch präpariert war; chemisch reine Fruktose erschien beinahe wertlos.

Die übrigen Kohlenhydrate erschienen von viel kleinerem und höchst mittelmäßigem Nährwert für Monilia sitophila. Meistnährend war Inulin; Dextrin, Milchzucker und Saccharose in absteigender Linie weniger nährend.

Also scheint Laktose das schlechteste Nährmittel für alle erwähnten Schimmelpilze zu sein. Dextrose, Maltose und Stärke sind dagegen von besonderem Nährwert, während Saccharose etwas weniger für Pilzentwickelung im allgemeinen und besonders für die des Mucor Rouxii taugt. Wie zu ersehen ist, beschränken sich die erwähnten Forscher auf einfachen Vergleich von verschiedenen Kohlenhydraten bezüglich ihres Nährwertes für gewisse Gattungen der Schimmelpilze, und führen leider keine analytischen Zahlen zum Beweise an. Ausgenommen Went, der Gewichtstabellen der Trockensubstanz von Monilia sitophila anführt.

Fleroff[3]) hat den Einfluß von verschiedenen Nährstoffen auf die Atmung von Mucor mucedo untersucht und hat dabei die von ihm untersuchten organischen Verbindungen in folgender Weise aufgestellt: „Lävulose, Dextrose, Maltose, Saccharose, Inulin, weinsaures Ammonium und Weinsäure.“ Am meisten ernährend erschien Lävulose, dann weniger nährend folgen die übrigen in absteigender Reihenfolge. Er führt jedoch keine bestimmten Gründe für dieses Ergebnis an. Denn Fleroff hatte die Trockensubstanz (des auf erwähnten Verbindungen und bei einer bestimmten Konzentration derselben in der Lösung kultivierten Schimmelpilzes) nicht gewogen. Doch können seine bezüglich der Atmungsenergie von Mucor mucedo erhaltenen Zahlen[4]) nur die Intensität der Lebensfunktionen eines Organismus beweisen, der von dieser oder jener organischen Verbindung ernährt wird.

1) Chrząszcz, Die chinesische Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)

2) Went, Monilia sitophila, ein technischer Pilz Javas. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1901.)

3) Fleroff, Einfluß der Nahrung auf die Atmung der Pilze. 1900. [Russisch.]

4) Nach Fleroffs Untersuchungen hat Mucor mucedo am 11. Tage nach seiner Aussaat in Saccharose 9,6 mg CO_2 in 1 Stunde ausgeschieden. 7 Stunden nach der Ersetzung der in der Kulturflüssigkeit enthaltenen Saccharose durch Dextrose war die Menge der in 1 Stunde ausgeschiedenen CO_2 = 38,8 mg.

Das Steigen der Atmungsenergie aber, welches sich in relativ größerer Menge der in einem gewissen Zeitraume ausgeschiedenen CO_2 ausdrückt (wenn z. B. Saccharose durch Dextrose ersetzt wird), kann nicht unmittelbar nur der besseren Ernährung des Pilzes durch Dextrose zugeschrieben werden.

Es muß hier noch bemerkt werden, daß die Möglichkeit ganz genauer Studien über hier erwähnte Kohlenhydrate bei Fleroffs Verfahrungsart ausgeschlossen war, weil letztere samt den Mineralsäuresalzen[1]) sterilisiert wurden, so daß die Möglichkeit der Hydrolyse von zusammengesetzten Kohlenhydraten nicht beseitigt wurde.

II.

Meine Aufgabe war, den Entwickelungsprozeß eines auf verschiedenen Kohlenhydraten kultivierten Schimmelpilzes ausführlich und stufenweise zu untersuchen. Ich beabsichtigte, sein Entwickelungsbild in verschiedenen Altersstufen sowie sein Verhältnis zu den ihm als Nährmittel dienenden Kohlenhydraten darzustellen. Ferner war es nicht wenig wünschenswert, auch den relativen Nährwert der untersuchten Kohlenhydrate für den Schimmelpilz sowie seinen Stickstoffbildungsprozeß in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen und seinem Lebensalter zu erforschen.

Für meine Studien hatte ich Amymyloces β (Reinkulturen desselben wurden von Král in Prag geliefert) ausgewählt. Letztgenannter Pilz zeichnet sich unter anderem durch eine relativ späte und langsame Fruchtbildung aus; so erschien die Möglichkeit gegeben, längere Zeit mit einem in denselben physiologischen Bedingungen sich bewegenden Organismus zu experimentieren. Als Kulturboden wurde die Raulinsche Flüssigkeit[2]) angewandt, nur wurde der Rohrzucker in derselben bei den verschiedenen Versuchen durch das eine oder das andere der in Untersuchung genommenen Kohlenhydrate ersetzt und anstatt der Weinsäure wurde der Flüssigkeit nur etwas Schwefelsäure zugesetzt (1 : 1000).

Die Untersuchungen wurden auf folgende Weise ausgeführt: In einem Erlenmeyerschen Kolben (Fassungsraum ca. 400 bis 450 ccm) wurden 100 ccm Raulinsche Kulturflüssigkeit ohne Zucker hineingegossen, dann verstopfte man die Oeffnung mit einem Wattepfropfen, der mit 2 ihn durchbohrenden Glasröhrchen versehen war. Das kürzere von beiden, das zur Lufteinführung diente, war mit Watte zugestopft, das längere, bis zum Boden reichende Röhrchen wurde mittels eines fest verschlossenen Gummiröhrchens mit dem längeren Glasröhrchen eines anderen auf dieselbe Weise eingerichteten Kolbens verbunden. Der letztere Kolben enthielt 6 g genau abgewogenen, zuvor bei 75—80° ausgetrockneten Kohlenhydrates und 10 ccm destillierten Wassers. Beide

1) Zum Kultivieren des M. mucedo hat Fleroff folgende Mischung angewandt: Wasser 1000 ccm, Ammoniumphosphat 2,0, Kaliumnitrat 2,0, Magnesiumsulfat 0,5, Calciumchlorid 0,1, Pepton 10,0, Zucker oder andere organische Verbindung 60,0. Nach dem Auflösen wurde die Flüssigkeit mit einigen Tropfen Phosphorsäure gesäuert.

2) Ann. des sc. natur. Série V. T. XI. 1869. p. 201.

Kolben wurden dann zusammen in einem Autoklaven bei 120° sterilisiert. Nach dem Abkühlen wurde die Raulinsche Kulturflüssigkeit aus dem ersten Kolben in den anderen durch das erwähnte Gummiröhrchen umgegossen. Dann trennte man die beiden Kolben voneinander und die Oeffnung des Gummiröhrchens wurde mit Watte verstopft. Auf diese Weise wurde also eine reine Kulturflüssigkeit gewonnen, die gegen 6 Proz. reines, nicht hydrolysiertes Kohlenhydrat[1]) enthielt. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien.

Von Dr. **Em. Mencl,**

Assistent am zoologisch-anatomischen Institute der böhmischen Universität Prag.

Mit 1 Tafel.

Die vorliegenden Mitteilungen bilden eine Fortsetzung der von Vejdovský[2]) im Jahre 1900 über die Struktur der Bakterienzelle begonnenen und im Jahre 1903 durch einen exakten Beweis von Kernexistenz in den betreffenden Mikroben geschlossenen Arbeiten. In diesen Arbeiten wurde das Vorkommen von normalen Kernen in einem Bakterium betont, welches in der Lymphe eines Gammarus vom Garschinasee in der Schweiz lebt (Bacterium Gammari Vejd.), und weiter bei einem in dem Verdauungstraktus des Enchytraeiden Bryodrilus Ehlersi gefundenen fadenbildenden Bakterium; es erschien als wünschenswert, diese Befunde auch bei anderen Bakterienarten nachzuprüfen.

In erster Reihe wurde die Aufmerksamkeit auf einen großen, im Darm der Periplaneta orientalis lebenden Bacillus ge-

---

1) Außer dem Verhalten zu Fehlingscher Lösung war noch der Rotationswinkel von den in Untersuchung genommenen Kohlenhydraten bestimmt. Die Bestimmungen des $[\alpha]_D$ wurden mit dem Soleil-Wentzkeschen Apparat ausgeführt. Die Lösung (5 g auf 100 ccm Wasser) wurde in ein 20 cm langes Glasröhrchen gebracht. Die mittleren Ergebnisse von 5 Bestimmungen ließen sich durch folgende Zahlen für $[\alpha]_D$ ausdrücken (Temp. 17° C):

Raffinose	+	104,00
Saccharose	+	66,43
Laktose	+	52,59
Maltose	+	137,06
Galaktose	+	80,96
d-Glukose	+	53,28
Fruktose	—	98,61

Dextrin enthielt keine Stärke, doch etwas Dextrose oder Maltose; Inulin enthielt keine Stärke, $[\alpha]_D = 38{,}2$ und wurde bei der Hydrolyse in Fruktose verwandelt; Fehlingsche Lösung reduziert nicht (Spuren).

2) Vejdovský, Kústrojnosti a vývoji bakterií. (Sitz.-Ber. d. königl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. Prag 1900.) — Bemerkungen über den Bau und die Entwickelung der Bakterien. (Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. VI.) — Nové zprávy o ústrojnosti bakterií zvláště o jádru a jeho dělení. Sitz.-Ber. d. königl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. Prag 1903. — Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. (Diese Zeitschr. Abt. II. Bd. XI.)

lenkt, der unlängst von Schaudinn (Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen, Arch. f. Protistenkd. Bd. I. 1902) beschrieben und unter dem Namen Bacillus Bütschlii in die Wissenschaft eingeführt wurde. Daß die genannte Art besonders gut dazu geeignet wäre, unsere Kenntnis über die Morphologie der Bakterien zu bereichern, das geht genügend aus den Angaben Schaudinns über die Größe des Bacillus Bütschlii hervor. Diese Art kommt in dem Intestinum der gemeinen Küchenschabe, Periplaneta orientalis, vor; da ihre Länge zwischen 80—24 μ schwankt (nach Schaudinn durchschnittlich 60 μ) und ihre Breite 4—5 μ beträgt, ist es klar, daß die genannte Art eines der besten Objekte für unsere Zwecke vorstellt. Außerdem kommt dieser Bacillus massenhaft in dem Verdauungsstraktus der infizierten Exemplare von Periplaneta vor. Etwa 3 Proz. von dem von Schaudinn untersuchten Berliner Materiale waren von diesem Mikroorganismus behaftet. Auch ich habe in dieser Richtung einige Versuche angestellt, hauptsächlich aus dem Grunde, weil ich die mir sehr gut aus eigener Erfahrung bekannten Resultate Vejdovskýs mit den Abbildungen Schaudinns keineswegs in Einklang bringen konnte und weil mich die Frage von der Organisation der Mikroben schon lange interessierte. Ich habe also etwa 90 Individuen von Periplaneta auf den Darminhalt geprüft, aber ganz erfolglos. Die Untersuchung geschah anfangs auf die von Schaudinn angegebene Weise, aber, als ich keine Resultate erhielt, griff ich auch zu feineren Methoden. Selbst dann sind alle meine Versuche gescheitert. Sogar das längere Aufbewahren einer größeren Zahl der Tiere in einem engeren Raume hat nicht geholfen, obzwar man annehmen muß, daß in solchen Verhältnissen die Infektion erleichtert wird. Schaudinn gibt an, er habe eine ausgiebigere Infektion durch eine Art von Reinfektion erzielt, indem er die Tiere hungern ließ und sie auf diese Weise zwang, eigene sporenenthaltende Faeces zu verschlingen. Ich selbst habe bisher auf diese Weise keine günstigen Erfolge erzielt; es scheint mir also wahrscheinlich zu sein, daß die Infektion seitens des Bacillus Bütschlii bloß eine zufällige ist und daß es sich im Schaudinnschen Falle um eine temporäre und lokalisierte Epidemie handelt. Was für Faktoren in Betracht kommen, muß dahingestellt bleiben, da wir nicht einmal bei Schaudinn über diese Verhältnisse nähere Angaben finden. Jedenfalls aber wäre es wünschenswert, da Bacillus Bütschlii von allen anderen bisher bekannten Arten ohne Zweifel das beste Material für die Morphologie repräsentiert, die Umstände seines Vorkommens und seiner Lebensweise näher zu erforschen.

Bei allen von mir untersuchten Exemplaren von Periplaneta läßt sich eine große Menge der verschiedenartigsten Parasiten feststellen, hauptsächlich von Sporozoen, die sich in kolossaler Anzahl (Coccidien) in den Malpighischen Organen befinden; auch die Epithelien der Darmröhre sind von Sporozoen durchsetzt, abgesehen von ungeheuren Mengen von Sichelsporen, welche hier und da massenhaft im Darminhalte vorkommen. Auch andere Parasiten sind da häufig, hauptsächlich Flagellaten und Nematoden, die

letzteren in verschiedenen Entwickelungsstadien. Dagegen muß hervorgehoben werden, daß die Mikrobenflora, abgesehen von verspeisten Sporen und Mycelien der die Nahrung (Erbse, Semmel) bedeckenden Schimmelpilze, eine recht spärliche ist.

Die Methoden.

Als ich mich überzeugte, daß die Untersuchung des Darminhaltes auf die Bakterien, wenn sie direkt am Objektgläschen gemacht wurde, immer zu negativen Resultaten führt, schritt ich lieber zu einer exakteren Methode, nämlich zu der Schnittmethode.

Nachdem der Verdauungstraktus mittels einer Pinzette vorsichtig herausgerissen war, wurde er im ganzen samt den Adnexen in folgender Lösung fixiert:

Konzentrierte Sublimatlösung 4 Teile,
Formaldehyd 40 Proz. 1 Teil,
destilliertes Wasser 3 Teile,
Eisessig 1—2 ‰ des Ganzen.

Die Dauer der Fixation beträgt 24 Stunden, kürzere Fixation führt nie zu guten Resultaten. Nach der vollführten Fixation wurden die Objekte in 45-proz. Alkohol gelegt, dann werden die Adnexe mittels einer feinen Pinzette weggetragen, hauptsächlich die Reste des Fettkörpers etc., dann folgt der 70-proz. Alkohol mit Jodzusatz und endlich wird das Ganze auf die übliche Weise entwässert und durch Xylol oder Chloroform in Paraffin eingebettet. Weil aber die Verarbeitung von ganzen langen Serien der einzelnen Verdauungsstrakte viel Zeit erforderte und ganz überflüssig wäre, bei der äußerst kleinen Wahrscheinlichkeit zu günstigen Resultaten zu gelangen, wurde es so gemacht, daß wir immer einige Schnitte auf das mit Mayers Eiweißglycerin bestrichene Gläschen legten, sie auf das Gläschen preßten und auf einem Gasbrenner erhitzten, bis sich das Paraffin auflöste; dann wird rasch, ehe dasselbe erstarrt, auf das Gläschen Xylol aufgegossen, dann absoluter Alkohol, mit Wasser abgespült und mittels erwärmten Karbolfuchsins einige Augenblicke gefärbt. Darauf wird das Präparat mit Wasser abgespült, mit Alkohol absol. differenziert, bis keine Farbe abgeht, und endlich, bloß in Xylol mit einem Deckgläschen zugedeckt, unter dem Mikroskope bei mittlerer Vergrößerung durchsucht. Auf diese Weise behandelt, haften die Schnitte ganz fest auf dem Gläschen und man erhält sehr rasch gute Kontrollpräparate; wenn wir natürlich Bakterien im Darme konstatieren konnten, wurde weiter geschnitten, im entgegengesetzten Falle wird ein Stückchen des Paraffinblockes vorsichtig weggeschnitten und von der tieferen Schicht werden einige Probeschnitte genommen etc.

Zum Färben der Schnittserien wurde regelmäßig die Heidenhainsche Eisenhämatoxylin-Methode benützt und gewöhnlich mit irgendeiner Plasmafärbung nachgefärbt. Im allgemeinen kann man behaupten, daß die Mikroben vorzüglich fixiert und differenziert sind, wenn dasselbe auch bei den Geweben der Fall ist.

Schon oben habe ich erwähnt, daß es mir nie gelungen ist, den gesuchten großen Bacillus Bütschlii zu finden. Dagegen

jedoch fand ich bei etwa 3 Exemplaren von Periplaneta in den mittleren und Endpartieen des Verdauungsstraktus eine Menge von verschiedenartigen Bakterien. Was die Größe derselben betrifft, waren alle das Gegenteil der Schaudinnschen Art, die größten von ihnen waren nicht ganz 0,006 mm lang; trotzdem aber ließen alle, die Involutionsformen ausgenommen, so schön differenzierte Strukturen erkennen, daß ich es für notwendig halte, dieselben an dieser Stelle zu beschreiben.

Beobachtet wurde mit Zeiß Apochromat-Immersion 2,0 mm und Kompensationsokular 8 bei künstlicher Beleuchtung. Die Lichtquelle war ein Auer-Brenner, dessen Licht, durch ein Loch durchgelassen, von einer großen Linse auf dem Konkavspiegel des Mikroskops gesammelt wurde; zwischen die weit offene Irisblende und den Kondensor wurde Kobaltglas geschaltet. Bei günstiger Zusammensetzung dieser Vorrichtung erreichen wir sehr schöne und scharfe Beleuchtung, bei welcher die Augen nur wenig angestrengt werden. Nur auf diese Weise ist es mir gelungen, bei meinem recht winzigen Objekte sehr feine Details zu erkennen.

Es muß bemerkt werden, daß schon auf den obenerwähnten Probepräparaten eine gewisse Differenziation der Zellenkomponenten zum Vorschein kam, wo die Farbe (Karbolfuchsin) mittels absoluten Alkohols differenziert und überhaupt die histologische Methode angewandt wurde. Auf solchen regressiv gefärbten Präparaten hebt sich das zentrale Protoplasma mit Kern und die dunkle Polfärbung dank der höheren Affinität dieser Zellbestandteile zu den Farbstoffen recht scharf hervor. Noch eine Erfahrung verdient bei dieser Gelegenheit Erwähnung. Unter den oben angeführten Bedingungen durchsuchte ich meine etwa 3 Jahre alten Präparate von verschiedenen Mikroben, bei denen ich von den üblichen bakteriologischen Methoden (Fixation durch Wärme am Deckgläschen etc.) nicht abgewichen bin, bis auf die nachträgliche Differenziation mit Alkohol nach Färburg mittels Karbolfuchsin und Methylenblau. Dazu kommt auch der Umstand, daß diese Präparate im Laufe der Zeit blasser geworden sind, was hauptsächlich von den Methylenblaupräparaten gilt.

Auf diesen Präparaten ließen sich, natürlich nur bei höchst angespannter Aufmerksamkeit, hier und da auf einzelnen Stäbchen ähnliche Strukturen beobachten, welche ich weiter unten beschreiben werde. Bei dem Bacillus Megatherium (Methylenblaupräparat) waren die Pole und das Zentrum dunkel; bei Bacterium typhi (Karbolfuchsin) dunkle Pole, das Zentralprotoplasma dunkler als die fast ganz weißen Seitenvakuolen, jedoch an einer Stelle tief dunkel (Kern?); bei Spirillum rubrum ähnlich; bei Bacillus subtilis ganz leicht bemerkbare Strukturen (Methylenblau); Bacterium coli foetidum ähnlich (Karbolfuchsin); sehr selten bei Diphtherie. Bacillus tetani, sporenbildend, zeigte ganz schwarze Körnchen in den Stäbchen sowie manchmal auch in den Sporen. Solche Gebilde habe ich auch andere Male beobachtet; ob es sich da um Babes-Ernstsche Körperchen (ihr Vorkommen in den Sporen spricht dagegen) oder um Gebilde anderer Art oder gar um Artefakte handelt, muß völlig dahingestellt bleiben.

Da es sich voraussetzen läßt, daß meine Beobachtungen nachgeprüft und erweitert werden, erlaube ich mir noch auf einige Methoden näher einzugehen, welche vorteilhaft benützt werden können, wo es sich um Reinkulturen handelt. Die Ergebnisse meiner Beobachtungen bei den kleineren Periplaneta-Symbionten haben mich veranlaßt, irgend eine auf künstlichem Nährboden kultivierte Bakterienart mit jenen zu vergleichen. Zu diesem Zwecke stand mir der Bacillus Megatherium von einer Peptonagargelatinekultur zur Verfügung; die Kulturen wurden auf zwei resp. drei verschiedene Weisen verarbreitet zum Vergleiche mit getrockneten oder mittels Wärme ohne vollkommene Austrocknung fixierten Präparaten. Die nach der unten angegebenen Weise behandelten Präparate sind von solcher Natur, daß ich die Methoden ohne weiteres warm empfehlen kann.

1) Die in einer gewöhnlichen Eprouvette befindliche Kultur wurde so fixiert, daß man auf dieselbe die obenerwähnte Fixationsflüssigkeit im Ueberschusse hinaufgießt, damit womöglich die Fixage eine hohe Säule bildet. Dies geschieht aus dem Grunde, damit die Fixationsflüssigkeit unter höherem Drucke in die Kultur hineindringt, da es unter den herrschenden Umständen nur von einer Seite geschieht. Die Fixation dauert ebenfalls 24 Stunden; nach dem Abspülen mit destilliertem Wasser (der Austausch der Flüssigkeiten muß möglichst vorsichtig vollführt werden), auf welches dann der 45-proz. Alkohol mit Jodzusatz folgt. Nach gründlichem Auswaschen des Sublimats zersplittern wir die Eprouvette mittels einer Zange und machen so die Gelatine mit der fixierten Kultur frei. Der Nährboden besitzt eine sulzartige Konsistenz, die er nicht einmal im absoluten Alkohol und beim Einbetten in Paraffin verliert. Mit einem scharfen Skalpell wird die Bacillenkultur samt einer dünnen Gelatinescheibe von dem übrigen Nährboden abgetrennt, auf die übliche Weise in ganz weiches Paraffin eingebettet und in irgend einem kälteren Raume geschnitten. Wie schon erwähnt, wird die Gelatine, wie ich anfangs erwartete, im Paraffin nicht spröde. Das weiche Paraffin haftet besser auf der Gelatine, und obzwar es im kalten Raume einigermaßen hart ist wie ein recht hartes Paraffin in einem entsprechend warmen Raume, hat es doch im allgemeinen eine weit günstigere Konsistenz. Die Schnitte klebt man mit Eiweißglycerin auf. Auf diesem Wege erhielt ich 1 μ dicke, komplette Serien ganz sicher und ohne Schwierigkeiten; dickere Serien, etwa 4 μ, sind natürlich wünschenswert.

Eine andere Methode ohne Paraffineinbetten und ohne Schneiden am Mikrotom ist folgende: Wir bereiten uns eine Emulsion von Bakterien im lebendigen oder fixierten Zustande (das erstere scheint mir vorteilhafter zu sein), indem wir in einem Tropfen von Mayers Glycerineiweiß einige Oesen des Materials aus der Kultur übertragen und gut durchmischen. Mit der so bereiteten Emulsion bestrichen wir in einer recht dünnen Schicht das Objektgläschen mittels eines feinen Haarpinsels.

Wenn nun die Emulsion lebendige Mikroben enthält, legen

wir die bestrichenen Objektgläser in die erwähnte Fixationsflüssigkeit auf 24 Stunden, waschen sie aus, färben sie und bewahren dieselben nach Entwässerung und Aufhellung mit Xylol in Kanadabalsam unter dem Deckgläschen auf. Durch die Fixationsflüssigkeit gerinnt das Eiweiß und das Austrocknen kann also ausbleiben. Wenn dagegen in der Emulsion fixierte Bakterien enthalten sind, schlagen wir das Eiweiß mittels Alkohol oder Wärme nieder.

Die Färbung ist dieselbe wie früher, also vorwiegend mit Heidenhains Eisenhämatoxylin.

Was speziell den Bacillus Megatherium betrifft, so soll bemerkt werden, daß es leicht möglich ist, nach der Fixation der Kultur in der Eprouvette die ganze Kolonie von dem Nährboden abzuheben und sie allein ins Paraffin einzubetten. Ob es auch bei anderen Arten gelingt, kann ich nicht entscheiden.

Ich habe schon früher erwähnt, daß eine gewisse Differenzierung von Strukturen schon nach Karbolfuchsin zum Vorschein kommt, natürlich nach Entziehen der Farbe mit Alkohol, also durch eine regressive Färbung. Sehr schöne Resultate erzielt man nach einer regressiven Färbung mit Borax-Methylenblau (Fig. 10—12). Dagegen aber erwiesen sich verschiedene Kernfärbungen als unbrauchbar. Das Färben der Mikroben mittels Kernfärbemittel ist allerdings nicht neu; solche Farben probierten schon früher z. B. Neißer und Ernst. Im Jahre 1872 tingierte mit Hämatoxylin Eberth und 3 Jahre später Weigert mit Karmin und Teerfarbstoffen (hauptsächlich Methylviolett). Die Anilinfarben führten (1876—1878) bekanntlich Salomonsen, Koch, Ehrlich in die Bakteriologie ein (die letzten zwei sind Urheber der bekannten Methode des Austrocknens auf dem Deckgläschen). Ich habe eine ganze Reihe der verschiedenartigsten Farben probiert, aber keine lieferte mir hinreichende Resultate. Obzwar ich mit Safranin vor Jahren sehr lehrreiche Präparate von Saccharomyceten erhielt, war es in diesem Falle das Gegenteil. Aehnlich wenig brauchbar erwies sich Gentianaviolett, Methylviolet, Dahlia, Karmine (Parakarmin, Boraxkarmin, Pikrokarmin), Hämatoxylin nach Ehrlich und Delafield. Die letzteren zwei Farben paßten nicht, und ähnlich auch die übrigen, vielleicht wegen der Kleinheit des Objektes für das Erkennen der feinen Strukturen; der Kern und auch alle übrigen Komponenten sind sehr winzig und bei der scharfen Beleuchtung, die ich verwende, können sie leicht der Durchsichtigkeit der genannten Farben halber unsichtbar werden, oder aber es dringen die genannten Farbstoffe nur schwierig in den Bakterienkörper ein, denn derselbe ist sogar für die Fixationsmittel sehr schwer durchgangbar.

Was die Ansichten über den Bau der Bakterien betrifft, so sind dieselben recht verschiedener Natur, und ich beabsichtige nicht, die ganze große Literatur über diesen Gegenstand anzuführen und begnüge mich bloß mit einigen Bemerkungen. Die Ansicht, daß die Bakterien kernlose Organismen sind, verteidigen Fischer und Migula. Mit Hinsicht jedoch auf unsere heutigen Erfahrungen läßt sich diese Anschauung nur schwer halten, hauptsächlich wenn dieselbe sich bloß auf negative Beobachtungen stützt.

Mir scheint, daß dieser Umstand nur in der Unzulänglichkeit der angewandten Methoden seine Ursache hat, nämlich, daß das Material ungenügend und hauptsächlich nicht lange genug fixiert wurde. Die Methode der Tinktion ist nicht ohne jede Bedeutung in dieser Sache, aber gegenüber dem eben erwähnten Faktor doch im ganzen von untergeordneter Bedeutung.

Ich habe weiter oben die Fixationsdauer auf 24 Stunden angegeben, und kann sogar auf Grund der in dieser Richtung unternommenen Versuche sagen, daß die Zeit für die Fixation von Bakterien eine minimale ist. Was weiter die Tingierung betrifft, so soll erwähnt werden, daß der Kern bei der Entfärbung seine Farbe fast plötzlich verliert, so daß wir nicht selten Stäbchen finden, die „kernlos" sind und auf den Polen die Farbe behalten; das Protoplasma färbt sich nur wenig, behält dafür aber seinen lichten Ton sehr lange. Diejenigen Körnchen, die Vejdovský für Assimilationsprodukte hält (Babes-Ernstsche, metachromatische Körnchen), trotzen sehr lange der Entfärbung (Fig. 4*d*), und wegen dieser hohen Affinität zu den Farbstoffen hält sie Ernst für ein Kernäquivalent. Am längsten behalten die Pole die Farbe, jedoch nur nach gut gelungener Fixation.

Ich habe gleich am Anfange dieser Zeilen bemerkt, daß diese meine Untersuchungen nur en passant gemacht wurden, und dieser Umstand soll erklären, warum sich die Studien und Versuche nicht weiter erstrecken und hie und da höchst lückenhaft erscheinen. Es handelt sich mir jedoch in der vorliegenden Abhandlung um bloßes Registrieren der Sache und, um einen Anlaß zu weiteren Untersuchungen zu geben, und aus diesem Grunde fehlt da auch die Bestimmung der Arten, zu welchen die beschriebenen Bakterien gehören, ja sogar, wie viel Arten es überhaupt sind, welche die Bedingungen ihrer Kultivierung sind etc. Dieses und andere Fragen überlasse ich den Bakteriologen und glaube, daß die in dieser Arbeit vorhandenen Lücken, deren ich mir wohl bewußt bin, doch die Bedeutung des Beobachteten nicht herabsetzen.

Da also die Arten nicht bestimmt sind und dieser Umstand Irrtümer stiften könnte, werden wir bei der Beschreibung nach der beiliegenden Tafel fortschreiten.

Der äußerlichen Form nach haben wir es mit einigen wenigen zahlreichen Arten zu tun, die einander sehr ähnlich sind.

Eigene Befunde.

Sämtliche Figuren der Tafel sind nach Heidenhainschen Hämatoxylinpräparaten gezeichnet (Fig. 1—5 mit verdünntem Karbolfuchsin nachgefärbt, andere mit Fuchsin S, Eosin, Orange G, Bordeaux R, Bleu de Lyon). Eine Ausnahme bilden nur die Figg. 10 und 11, die nach einem Methylenblaupräparate abgebildet sind.

Fig. 1—5 veranschaulichen eine Art von Bakterien, die 4mal (in der Fläche) größer abgebildet sind, als wenn sie mittels der Abbéschen Zeichenkamera aufgeworfen wären. Bei dieser Art sind die Strukturverhältnisse auf eine ganz klare Weise ausgesprochen. Einige Stäbchen sind ein wenig gebogen (z. B. *b*, *c*, *n*, *o*), andere sind gerade; größtenteils weisen sie eine dick an den

Enden angehäufte Masse auf, die sich stark mit Farbe imbibiert. Diese Gebilde nenne ich im folgenden Polkappen, und ich halte sie für Protoplasmaanhäufungen, welche wahrscheinlich durch die Zellteilung bedingt sind. Von diesen Polkappen zieht sich längs der Seitenkontur der Stäbchen das periphere Protoplasma bis auf die andere Polkappe hin. Dieses periphere Protoplasma bildet auf bestimmten, gewöhnlich zwei Stellen Höckerchen, in welche sich stark färbende Körnchen eingelagert sind.

In der Mitte der Stäbchen befindet sich ein Cylinder von Zentralprotoplasma (*a*, *b*, *f*), manchmal aber nur eine Anhäufung desselben, welche nicht bis auf die gegenüberliegende Wand reicht (*e*). In diesen Partieen des Protoplasmas liegt der Kern.

Der Kern selbst hat nicht immer gleiche Beschaffenheit; er erscheint als ein homogenes schwarzes Kügelchen, das nur einen Teil der Breite des Stäbchens einnimmt (*d*), oder aber der Kern hat denselben Charakter und berührt beide seitlichen Konturen des Stäbchens (*ȧ*). In anderen Fällen (*e*) erscheint der Kern als ein ganz kleines, wie auf die Wand des Stäbchens aufgedrücktes Gebilde. Aus dem häufigen Vorkommen der Individuen mit kleinerem Kern als die Breite der Stäbchen, welche den Kern auf einer Seite besitzen, läßt sich darauf schließen, daß ein ruhender Kern eben ein recht kleines, in der Mitte des Stäbchens jedoch seitlich liegendes Gebilde vorstellt, so daß durch die Lage desselben bei den Bakterien eine Symmetrieebene bestimmt wird. In der weiteren Beschreibung nenne ich die Seite, welcher der Kern anliegt, ventral, die entgegengesetzte dorsal. Die Benennung ist natürlich eine ganz willkürliche, es wäre vielleicht besser, für die erstere Seite des Stäbchens, den Terminus „adnukleär“, für die andere „antinukleär“ anzuwenden.

In einer ganzen Reihe von Bakterienindividuen jedoch stellt der Kern keine homogene schwarze Kugel vor, sondern er erscheint etwas blasser, aber dafür gewöhnlich größer. Bei aufmerksamerer Beobachtung läßt sich eine gewisse Struktur der Kernsubstanz bemerken, wie eine feine Granulierung, wo wahrscheinlich die dichte Chromatinmasse des Kernes in einzelne winzige Chromatinkügelchen zerfiel, was also für eine Vorstufe der Teilung gehalten werden muß. Die chromatische Substanz jedoch geht in diese Form früher über, als der Kern selbst zu wachsen beginnt, da sich der Zerfall des Chromatins auch bei den die ganze Breite der Stäbchen nicht einnehmenden Kernen beobachten läßt (*f*, *g* von der Seite, *h* von oben oder unten). Später vergrößert sich der Kern, bis er die ganze Breite der Stäbchen einnimmt (*i*, *k*). In einem Falle sehen wir die Chromatinsubstanz gegen eine Seite des Kernes orientiert (*l*), und dann sehen wir auf der entgegengesetzten Seite eine äußerst feine Kontur, die Kernmembran. Auch in anderen Fällen (Fig. 4*a*, 5*b*) ist das Chromatin nicht über den ganzen Kern gleichmäßig verteilt, sondern auf gewissen Stellen angehäuft.

Ich erwähnte schon früher, daß das periphere Protoplasma auf zwei Stellen zwischen dem Kern und den Polkappen Erhebungen bildet, und daß in denselben kleine, mit der Farbe stark sich imbibierende Körnchen liegen. Von diesen Stellen läßt sich manch-

mal eine brückenähnliche Protoplasmaverlängerung beobachten, die auf die andere Seite einmal direkt quer (Fig. 1, *ld*; Fig. 5*b*), andere Male konvergent hinübersteigt. In einigen Stäbchen liegen diese Körperchen in dem „ventralen" Protoplasma, also neben dem Kern, in anderen wieder in dem dorsalen, gegen den Kern. Diese Verschiedenheiten dürften natürlich durch verschiedene Arten erklärt werden. In jedem Falle aber muß man zugeben, daß das Vorhandensein der besprochenen Gebilde charakteristisch und regelmäßig ist. Neben diesen Körnchen befinden sich in den Bakterien noch andere, willkürlich lokalisierte, kleinere und nicht mehr in solchem Grade sich färbende (Fig. 4*e*; Fig. 5*a*, *b*) Körperchen. Diese zweite Gattung halte ich für die eigentlichen Assimilationsprodukte, indem ich den ersteren höhere Bedeutung zuzusprechen geneigt bin, obzwar ich dieselbe näher zu bestimmen bisher nicht im Stande bin.

Die eben geschilderten Verhältnisse finden nur für einen Teil der Individuen Geltung. In anderen Stäbchen sehen wir eine gewisse Querstreifung; in vielen sind 2, in anderen 3, manchmal 4 Streifen. Bei näherer Untersuchung finden wir, daß es sich in diesem Falle um wirkliche mitotische Teilungen handelt. Wo wir 2 Streifchen finden, befindet sich diese Mitose bereits im Dyasterstadium, wo 3, handelt es sich um Dyaster und Scheidewand zwischen den künftigen Tochterstäbchen, wo endlich 4 Streifen sichtbar sind, haben wir eine neue Mitose der Tochterstäbchen im Dyasterstadium, selten handelt es sich um 2fache Mitose eines und desselben Stäbchens.

Bei den von dem ersten P e r i p l a n e t a - Individuum bereits beschriebenen und auf Fig. 1—5 abgebildeten Bakterien ist es mir nie gelungen, das Stadium der Aequatorialplatte zu finden; es muß also angenommen werden, daß dieses Stadium recht rasch verläuft, was bei den anderen Stadien nicht der Fall ist.

Diejenigen mitotischen Teilungen, welche zur einfachen Querspaltung führen, laufen in der Mitte der Stäbchen im Gegensatze zu den Mitosen, welche zur Sporenbildung führen, wie wir später sehen werden. Die Mitosen der ersten Gattung nenne ich s c h i z o g e n, um sie von den s p o r o g e n e n Teilungen zu unterscheiden.

Fig. 5*a* zeigt klar ein junges Dyasterstadium, bei dem beide Chromatinpartieen noch sehr wenig voneinander entfernt sind, und wo man neben anderen auch jene 2 typische Körnchen zu Gesicht bekommt. Die chromatischen zwei Gruppen bilden nur äußerst selten (bei wenig vorgeschrittener Differenziation der Färbung) eine einheitliche dichte Masse, sie erscheinen eher wie gefranzt oder granulös, mindestens auf dem inneren (der anderen Chromatinmasse zugewandten) Rande, welcher Umstand natürlich beweist, daß es sich dabei um s e l b s t ä n d i g e C h r o m o s o m e handelt.

Im weiteren Laufe der Teilung entfernen sich die beiden Chromatinhälften der Spindel voneinander, und haben sie schon genügenden Raum zwischen sich gelassen, beginnt sich eine Scheidewand zu bilden, anfangs sehr fein (Fig. 1, *q*), jedoch später immer mehr und mehr auffallend (Fig. 1, *p*, *r*), so daß sie manchmal eine dritte

Chromatingruppe vortäuschen kann (Fig. 4*b*). Ich habe schon erwähnt, daß wir in seltenen Fällen in einem Stäbchen 2 Mitosen finden, beide im Dyasterstadium (Fig. 4*e*); diese Erscheinungen bin ich geneigt eher für eine Ausnahme als für eine Gattungseigentümlichkeit zu halten, ähnlich wie solche Erscheinungen, bei denen sich zwischen den Tochterchromatingruppen erst eine Scheidewand gebildet hat und sie beide schon in neue Mitose geraten (Fig. 1, *r*). Man dürfte diese Erscheinungen für Kennzeichen erhöhter und rascher durchlaufender Lebensfunktionen halten, wenn sie nicht in überwiegender Mehrheit von anderen regelmäßigen Prozessen vorkämen und zwar in demselben Medium, unter denselben Bedingungen. Es läßt sich natürlich dagegen einwenden, es handle sich in den zwei letzterwähnten Beispielen um eine andere Art mit anderen Lebensbedürfnissen, aber diese Frage, sowie noch eine ganze Reihe von anderen müssen wir unbeantwortet lassen und auf künftige Untersuchungen warten.

Manchmal, jedoch nicht so oft wie die zentrischen oder schizogenen Spindeln, finden wir eine Dyasterfigur, die zu einem Pole und manchmal recht auffallend hingeschoben ist. Solche Mitosen sind sporogen (Fig. 1 *n*; Fig. 2*b*) und führen also zu dem auf Fig. 2*a* veranschaulichten Gebilde. Schon früher (Fig. 2*b*), im sporogenen Dyasterstadium sehen wir einen Teil des Stäbchens zwischen beiden Chromatinpartieen geschwollen und mehr dunkel. Die fertige Spore ist ein eiförmiges oder ellipsoidisches Gebilde, welches auf einem Pole den Rest des mütterlichen Stäbchens trägt und auf dem anderen entweder den Rest der Polkappe in Gestalt eines dunklen Fleckens oder auch als einen kurzen Fortsatz, ebenfalls ein Teil des ursprünglichen Stäbchens. Die Sporenmitte nimmt eine hellere Masse als die verhältnismäßig stark sich färbende Peripherschicht ein. Manchmal sieht man im Innern der Spore einen schwarzen Körper, den Kern (Fig. 2a); wo dieser fehlt, ist es wahrscheinlich ein Zeichen von bereits hoher Resistenz der Sporenmembran gegen das Hineindringen von Farbstoffen in das Innere der Spore. Daß die Sporen der Kerne entbehrten, läßt sich nicht denken. Uebrigens hat Nakanishi auch für die Sporen die Anwesenheit von Kernen sichergestellt. Der Rest des mütterlichen Stäbchens zeigt auf der von der Spore distalen Seite eine Polfärbung und auf der anderen der Spore anliegenden Seite eine ähnliche, welche sich aber manchmal kegelartig bis fadenförmig zur distalen Färbung verlängert. Ueber die Bedeutung dieser Erscheinungen kann ich keine nähere Aufschlüsse geben, da es mir an einschlägigen Beobachtungen einer ganzen Stadienreihe vollkommen mangelt, ähnlich wie bei den eigentümlichen, auf Fig. 3 reproduzierten Verhältnissen, bei denen der Kern zwei schief gestellten und die Stäbchenmembran nach außen vorwölbenden Halbkugeln ähnelt. Es handelt sich vielleicht um einen eigentümlichen Teilungsmodus mit einer schiefgestellten Spindel, wie sie auch Vejdovský beschreibt und die ich bloß ausnahmsweie zu beobachten Gelegenheit hatte.

Bei den weiteren 2 Periplaneta-Individuen fand sich ein kettenbildendes Bakterium, bei dem einzelne Stäbchen denselben

Differenziationsgrad der Färbung besitzen. Diese Art ist noch kleiner als die eben beschriebene; die Stäbchen messen bloß etwa 3,3 μ und maximal sehr selten bis 4,4 μ, so daß also die Abbildungen 6—10 etwas größer gehalten sind, als die Bakterien wirklich im Mikroskop zum Vorschein kamen, denn die Größe bei der benutzten Vergrößerung (1150mal) wäre 4—5 mm. Dies war aber aus technischen Gründen wegen des Einzeichnens der Details nötig.

Die Stäbchen und Ketten, welche die Figg. 6 und 9 veranschaulichen, rühren von einem und demselben Individuum her. Der Intestinaltraktus enthielt, so viel man aus der äußeren Gestalt urteilen kann, eine einzige Art, ausgenommen vielleicht ein zentral verjüngtes Stäbchen *a*, und ein enorm langes *o* (Fig. 6). In diesem Falle können wir ähnliche Verhältnisse konstatieren wie bei der weiter oben beschriebenen Art. Die Polkappen kommen hier viel regelmäßiger vor (vielleicht infolge von kürzerer Entfärbung in Eisenalaun). Das Protoplasma ist wieder zentral und peripher angeordnet, wie es hauptsächlich auf den stark entfärbten Stäbchen zum Vorschein kommt (Fig. 6, *n*). Die Protoplasmabrückchen, welche den Körper der Bakterien quer überschreiten, sind hier häufiger (*p*, in dem ersten und zweiten Stäbchen), manchmal konvergent oder parallel, am häufigsten jedoch bilden sie zwei Halbkreise an den Seiten des Kernes (*p*, das zweite Individuum von rechts, *h*). In den Anknüpfungsstellen dieser Brückchen auf dem peripheren Protoplasma sind meistens die metachromatischen Körnchen eingebettet. Sehr häufig läßt sich auch da ein Unterschied zwischen diesen Körperchen und anderen 2 symmetrisch zum Kern gelegenen Körnchen sicherstellen (Fig. 6, *c*, *g*; Fig. 7, *c*, *d*, *g*). Die ersteren sind die eigentlichen Assimilationsprodukte des Protoplasmas, während sich die letzteren noch lange bei der Teilung beobachten lassen, was einen Unterschied von der früher beschriebenen Art bildet. Die Verteilung des Protoplasmas in den Stäbchen läßt sich, wie bereits erwähnt, sehr schön an den stark entfärbten Präparaten verfolgen, bei denen nämlich die Unterschiede in der Lagerung des zentralen, peripherischen, polaren Protoplasmas und der auf die andere Seite übertretenden Plasmabrücken recht gut hervortreten (Fig. 6, *n*; Fig. 7, k_1—k_5)[1]). Die Kernlage ist dieselbe wie früher; es muß weiter bemerkt werden, daß wir hier der schon oben accentierten Verschiebung des Kernes auf die „ventrale" Seite ebenfalls begegnen. Es läßt sich hier oft beobachten, wie das Chromatin in manchen Fällen durch den Einfluß der Fixation zusammengezogen ist, und da läßt sich wieder um die chromatinlose Stelle ein feines, dunkles Reifchen, die Kernmembran, feststellen (Fig. 6, *f*, *e*; Fig. 7, *d*).

Die Teilung ist ebenfalls eine mitotische, und zwar verläuft das Stadium der Aequatorialplatte wieder sehr rasch, so daß mir auch in diesem Falle ein ähnliches zu finden nicht gelungen ist. Das Dyasterstadium dagegen kommt äußerst häufig vor. Obzwar manchmal die Chromosomen ein einer flachen Querwand ähnliches Ge-

1) Die Pfeile zeigen die Stelle, wo sich 2 Stäbchen berühren.

bilde vorstellen (Fig. 6 *m*), sehen wir doch nicht selten, daß die chromatischen Spindelteile bogenförmig mit der konvexen Seite gegeneinander gekrümmt sind (Fig. 6 *k*, *p*, das fünfte Stäbchen von links). Die nicht vollkommen glatte Kontur dieser Gebilde sagt uns, daß es sich da wieder um Komplexe von Chromosomen handelt.

Abgesehen von den eben beschriebenen Strukturen kann man noch verschiedene andere abweichende Beispiele finden. Wir begegnen zum Beispiele einem, dem auf Fig. 5 vorliegenden ganz analogen Falle. Es ist wieder ein schiefgestelltes Spindelchen im Dyasterstadium (Fig. 6 *m*, drittes Stäbchen von links). Ueber den Fall *a* in der Fig. 6 ist es schwer, ein sicheres Urteil zu fällen — es scheint aber eine Involutionsform zu sein. Andere schiefe Spindeln im Aequatorialplattenstadium zeigt Fig. 7 *e*, *h*. Solche Spindeln ähneln vollkommen den von Vejdovský (1903, Figg. 3, 5) beschriebenen, und mir scheint, daß diese Verhältnisse keine Abnormität sind, sondern daß es eher von der Art abhängt. Vejdovský selbst reduziert die schiefe Spindelstellung auf den Ausbildungsgrad der seitlichen Vakuolen.

In der folgenden Schilderung kommen andere ganz neue Prozesse im Bakterienkörper in Betracht. Die Vorstadien finden wir schon bei den bereits beschriebenen Arten auf Figg. 2 *b*, 4 *c*, 7 *f*, *b*. Alle diese Fälle zeigen uns die Kerne resp. die Kernteilungsfiguren zu einem Pole des Stäbchens verschoben, und zwar im Falle 7 *f* den Kern in der Ruhe, im Falle 7 *b* während der Teilung.

Noch klarer zeigen uns diese Verhältnisse und in weiteren Details die bei einer anderen Periplaneta gefundenen Bakterienarten (Figg. 8—11). Für diesmal erachte ich es für überflüssig, die Organisation der Bakterien in Ruhestadien zu beschreiben, weil es mit dem eben gesagten vollständig übereinstimmt. Wenn wir aber die Fig. 8 betrachten, sehen wir gleich einen auffallenden Unterschied der abgebildeten Strukturen von den oben geschilderten.

In manchen Stäbchen finden wir zentral gelegene Mitosen (Fig. 8 *f*, *e*) im Dyasterstadium, welche da sehr häufig vorkommen. Es ist mir endlich gelungen, bei dieser Art ein Stadium der Aequatorialplatte zu finden (Fig. 9 *f*). Auch schiefe Mitosen in demselben Stadium sind häufiger als bei den früher beschriebenen Arten. Bei solchen schiefgestellten Mitosen läßt sich auf beiden Seiten der Aequatorialplatte ein ähnlich wie das Protoplasma tingierter gleichseitiger Konus, der natürlich zur Spindel gehört (Fig. 9 *b*), erkennen.

Bei einer beträchtlichen Zahl von Stäbchen können wir ganz eigentümliche Erscheinungen beobachten. Wir sehen nämlich eine Dyasterfigur recht nahe zum Stäbchenpole verschoben — eine sporogene Mitose — die jedoch nicht bloß durch ihre Lage von den schizogenen Figuren verschieden ist, sondern auch durch ihr Aussehen. Es ist auffallend, daß die Chromatingruppe, die zum Stäbchenpole sieht, viel dunkler ist, als die von demselben abgewandte. Wir begegnen hier einem höchst interessanten Falle, daß sich das Chromatin zum Dyasterstadium in zwei ungleiche Gruppen teilt, von welchen die reichlichere eine Spore, die ärmere den Stäbchen-

kern bildet (Fig. 8 *c*, *d*). Dieses Stadium kommt häufig genug vor. Auch hier, hauptsächlich bei der schwächeren Chromatingruppe, leuchtet manchmal die Zusammensetzung derselben aus einzelnen Chromosomen hervor.

In dieser Beziehung jedoch gilt für alle Bakterien keineswegs dieselbe Regel. Die Spore bildet sich in allen von mir beobachteten Fällen ganz auf dem Stäbchenende, mit Ausnahme der ersten Art (Fig. 2 *b*), und zwar, was die gemeinschaftliche Lage der Stäbchen betrifft, auf dreierlei Weise: Wir sehen in den Bakterienketten, daß die Sporen bei zwei benachbarten Stäbchen entweder an den voneinander abgewandten Enden gebildet werden, oder an den korrespondierenden (hintereinander), oder endlich an den einander zugekehrten. Im ersten Falle (Figg. 8 *g*, 10 *c*, 11 *b*) geschieht dies auf die eben beschriebene Weise. Aehnlich verhält sich die Sache bei den an hintereinander folgenden Enden gebildeten Sporen (Fig. 8 *i*). Die dritte Art und Weise ist spärlich und von den beiden vorigen ganz verschieden. Hier spielt sich die Mitose in der Stäbchenmitte ab, so daß die Sporulation in ihren jüngsten Stadien einer schizogenen Mitose vollkommen ähnlich ist. Bei einer sporadisch auf meinen Präparaten vorkommenden Art eines ovalen Bakteriums (Fig. 8 *n*, *p* wahrscheinlich mit Fig. 9 *g* identisch) sehen wir bereits das Dyasterstadium. Sobald die Dyasterfigur gebildet wird, beginnt am Zellkörper zwischen beiden Chromatinhälften eine Einschnürung bemerkbar zu werden, und in dieser Höhe findet eine Protoplasmaansammlung statt, die endlich zur Bildung einer Scheidewand führt (Fig. 8 *n*). An dieser Stelle findet die Trennung beider Hälften des ursprünglichen Mutterstäbchens statt. Beide Tochtergruppen des Chromatins bilden eine Spore an den zugewandten Stellen beider Tochterstäbchen — eine sympolare Sporulation, die ich so zum Unterschiede von den beiden anderen Sporulationsarten, nämlich der antipolaren (Fig. 8 *g*) und der metapolaren (Fig. 8 *i*), nenne.

Bei der sympolaren Sporulation entstehen also zwei Sporen, aber die beiden Tochterstäbchen bekommen kein Chromatin mehr und gehen zu Grunde; dagegen entwickelt sich bei der meta- und antipolaren Sporulation in jedem Stäbchen nur eine Spore, aber das Mutterstäbchen erhält eine gewisse Menge von Chromatinsubstanz — wie erwähnt eine kleinere als die Spore — und lebt weiter. Bisher wurde angenommen, daß die Mutterstäbchen nach der Sporenbildung zerfallen, welche Ansicht also bloß bei den sympolar entstandenen Sporen, welche ich bis aufs weitere für Seltenheit halten muß, richtig ist, aber im allgemeinen meinen Erfahrungen widerspricht.

Ich habe schon gesagt, daß bei dem meta- und antipolaren Sporulationstypus die Mutterzelle die kleinere Portion der Chromatinsubstanz besitzt, von welcher ein neuer Kern gebildet wird. Und wirklich finden wir bei einer ganzen Reihe von sporentragenden Zellen ein zentral gelegenes, reifenartig und schwarz tingierbares Gebilde ohne jeden Inhalt. Es ist der neue Kern, sehr chromatinarm. Die chromatische Substanz ist peripherisch angeordnet oder sie stellt höchstens ein oder zwei Körnchen im Inneren des Kreis-

chens (Fig. 8 *g*, *i*, *h*, *q*) vor. Während des weiteren Verlaufes vermehrt sich die Chromatinsubstanz, so daß jenes Reifchen stellenweise (Fig. 8 *l*, *h*) oder später ringsherum (Fig. 9 *i*; Fig. 10 *a*, *b*, *e*) sich verdickt. Manchmal jedoch erblicken wir Stäbchen, die außer Sporen und protoplasmatischen Gebilden nichts mehr enthalten (Fig. 8 *r*; Fig. 9 *g*); es handelt sich wahrscheinlich dabei um sympolar entstandene Sporen, oder um Stadien, wo die Chromatinsubstanz noch nicht die Mitte des Stäbchens erreichte. In den Endstadien sehen wir immer Stäbchen, die polar eine Spore tragen und in der Mitte einen normalen, nach einer Seite verschobenen Kern besitzen (Figg. 9 *d*, 10 *e*, 11 *b*). Es scheint, daß die polare Färbung des Protoplasmas bei der Sporenbildung zu verschwinden pflegt.

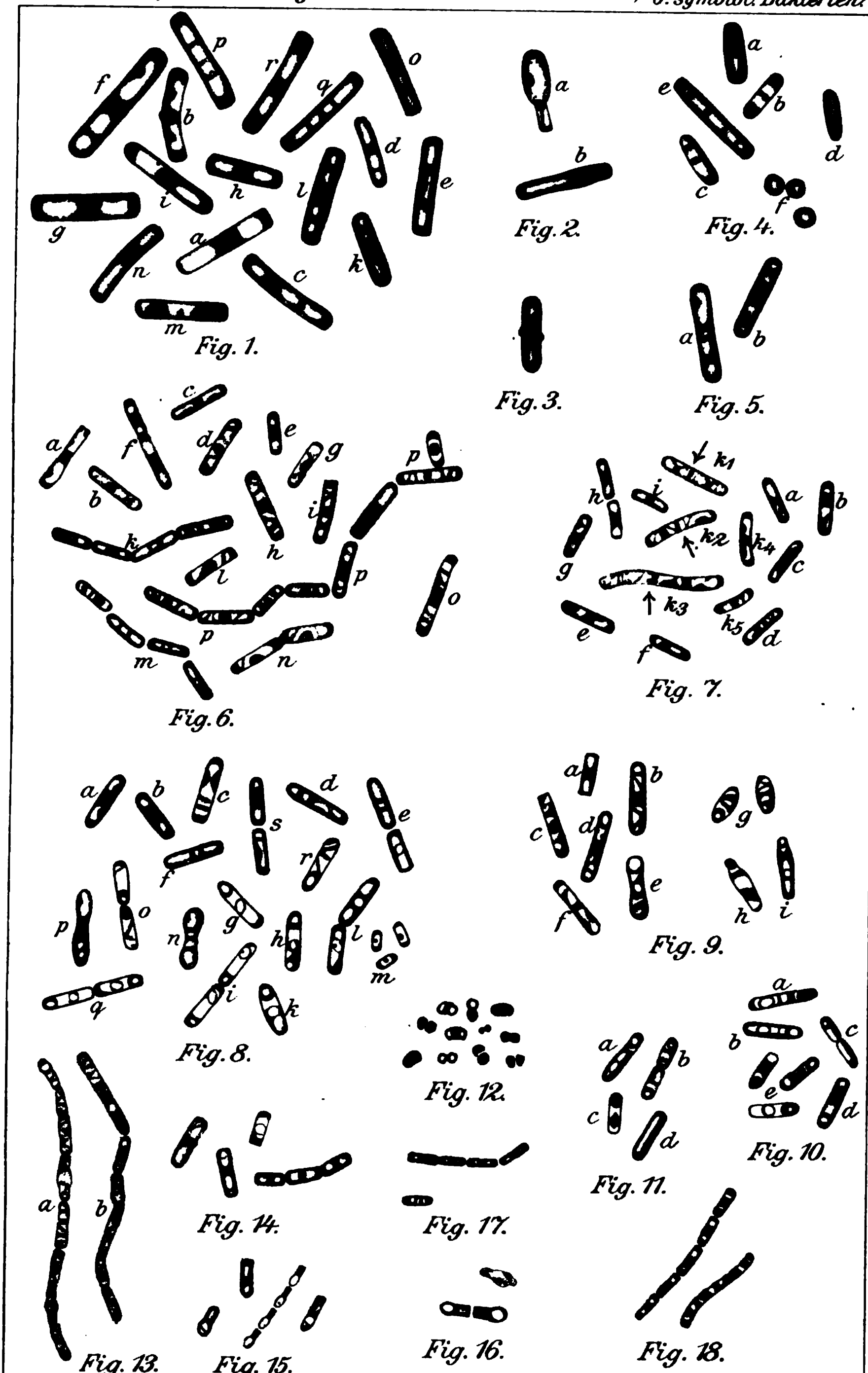
Daß die Bakterienzelle auch nach der Sporenausbildung weiter lebt, das beweisen — von der Anwesenheit der normalen Kerne abgesehen — auch schizogene und schiefe (Fig. 9 *h*; Fig. 11 *c*) bei den sporentragenden Stäbchen vorkommende Mitosen (Figg. 9 *e*, 10 *d*, 11 *c*). In einigen Fällen läßt sich knapp unter der Spore eine grau — ähnlich wie Protoplasma — sich färbende Scheidewand (Figg. 9 *h*, *i*, 11 *b*), die sich von den Seitenwänden her später verdickt, bis sie sich mittels Hämatoxylin ganz schwarz färbt (Fig. 11 *a*: Fig. 10 *b*), erkennen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieses Gebilde schon in der sporogenetischen Spindel im Dyasterstadium als eine ähnliche Scheidewand wie bei der schizogenetischen Teilung entsteht.

Was die Organisation der Spore betrifft, so muß bemerkt werden, daß dieselbe aus zwei Teilen, dem peripherischen und dem zentralen, besteht. Wir sehen hier und da die gesamte Spore schwarz gefärbt, andere Male als einen schwarzen Ring mit hellem Inhalte. Das ist wahrscheinlich von der Entfärbungsdauer bedingt, aber es ist daraus ersichtlich, daß die Peripherschicht zur Imbibition mit dem Farbstoffe beträchtlich mehr geneigt ist. Das Zentrum verliert die Farbe leicht und erscheint dann als auffallend lichtbrechender Körper, so daß er leuchtet, wenn er sich nicht gerade im Brennpunkte des Mikroskopes befindet. Diese Beobachtung stimmt vollkommen mit der Gottschlichschen Definition der Spore (Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. p. 41) überein: „Die Spore ist . . . ein kugeliges oder elliptisches Gebilde von konzentrierter Leibessubstanz (wie sich aus dem starken Lichtbrechungsvermögen und der chemischen Beschaffenheit ergibt), von sehr bedeutender Widerstandsfähigkeit gegen Färbung etc.“

Die Bildung von zwei Sporen in einem Stäbchen, wie sie ausnahmsweise bei einigen Saprophyten vorkommt, habe ich nicht beobachtet, und wo es so zu sein schien, ergab die nähere Beobachtung, daß es sich um zwei Zellen mit antipolar gestellten Sporen handelt.

In der Figur 8 habe ich drei kleine Bakterien abgebildet, welche von Sporen entstanden. Wir sehen bei ihnen einen zentralen Kern und Polkappen; ihre Entstehungsweise bleibt mir infolge Materialmangels dunkel.

Außer den beschriebenen Arten habe ich in einem Exemplare



Mencl gez.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

von Periplaneta in dem Darme verschieden gebildete Diplokokken gefunden (Fig. 12). Ich erwähne es des interessanten Umstandes wegen, daß diese Diplokokken die einzige Flora einer einzigen Periplaneta bildeten.

Ich erwähnte gleich am Anfange, daß ich die Ergebnisse an dem Bacillus Megatherium kontrollierte; dabei handelte es sich auch darum, ob es mir festzustellen gelingt, aus welchen Gründen man gewöhnlich zu spiralen oder netzartigen etc. Strukturen gelangt, abgesehen von „Strukturen“, welche man auf den getrockneten Objekten gefunden. Da ist die Unzulänglichkeit dieser Methode für feinere Zwecke recht scharf dokumentiert. Etwas bessere, aber doch ganz ungenügende Resultate bekommen wir nach der Fixation durch Erhitzen in einem Tropfen destillierten Wassers, wobei wir aber dem Austrocknen ausweichen. Mittels der Regressivfärbung erhalten wir die durch die Fig. 13 *a* veranschaulichten Strukturen. Wir sehen da, daß die Grenzen zwischen einzelnen Zellen einigermaßen und die Anordnung der innerlichen Bestandteile durch Mangel an Differenziation und Deformationen vollkommen verwischt sind. Wir erhalten eine ganze Reihe von verschieden gegeneinander gelagerten Querbrücken, die sich stark mit Farbe imbibieren und deswegen Chromatin vorzutäuschen vermögen. Das Aussehen derselben ist im allgemeinen spiralartig; in solchen Fällen differenziert sich nicht einmal das Eisenhämatoxylin gut, sondern es entfärbt sich alles auf einmal oder aber es bleibt alles gleich dunkel. Solche Artefakte sind noch mehr nach regressiver Tinktion mittels Methylenblau oder Carbolfuchsin verführerisch.

Bessere Erfolge hat man natürlich nach der Sublimatfixation, und da stellte es sich heraus, daß ungenügend lange Fixation ungenügende Dienste leistet. Auf Fig. 13 *b* sehen wir einen Faden, aus einzelnen Stäbchen des B. Megatherium bestehend, welche von einem hier und da schwarzgefärbte Körnchen führenden Querbrückennetze erfüllt sind. Hier aber läßt sich schon an manchen Stellen — obzwar natürlich nicht so scharf — eine ähnliche Struktur erkennen, wie wir sie oben beschrieben (Fig. 13 *b*, die unterste Zelle). Auch hier begegnen wir im allgemeinen Strukturen, die manchen in der Literatur beschriebenen ähnlich sind, und solche erhalten wir noch nach einer 12 Stunden dauernden Fixation. Nach einer längeren, aber nicht ganz vollkommenen Fixation erhalten wir aus der Megatherium-Kultur zweierlei Ketten, die dickeren und dünneren, wo einzelne Stäbchen merkliche graue Polfärbung und einen zu einer Seite liegenden schwarzen Kern besitzen (Figg. 17, 18). Auch in den sporentragenden Stäbchen (Figg. 15, 16) sehen wir ähnliche Verhältnisse. Erst die vollkommene Fixation gibt uns sichere Aufschlüsse über die Organisation der einzelnen Zellen (Fig. 14).

Damit breche ich für diesmal meine Mitteilungen ab und beschränke mich an dieser Stelle auf reine Beschreibung der Befunde.

ohne einige Erscheinungen in der einschlägigen Literatur, welche sich mit meinen Beobachtungen berühren, näher besprechen zu wollen [1]), wozu ich später Gelegenheit zu finden glaube.

Zur Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung.

[Mitteilung aus dem chemischen Versuchs- und Hefe-Reinzucht-Laboratorium der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg.]

Von **W. Seifert** und **R. Reisch.**

Einleitung.

Wie bekannt, entsteht bei der alkoholischen Gärung des Traubenmostes, sowie überhaupt bei der alkoholischen Gärung des Zuckers durch Hefe neben Alkohol Kohlensäure, Bernsteinsäure etc., auch Glycerin. Pasteur, welcher zuerst diese Bildung des Glycerins nachgewiesen, betrachtet dasselbe als ein direktes Gärungsprodukt, so wie dies Alkohol und Kohlensäure sind. Dementsprechend war er auch der Auffassung, daß zwischen Alkohol- und Glycerinbildung ein bestimmtes Verhältnis bestehe, welches sich innerhalb der Grenzen von 7—14 Gewichtsteilen Glycerin zu 100 Gewichtsteilen Alkohol bewegt, so daß Glycerin- und Alkoholbildung in einer gewissen Abhängigkeit stehen.

Entgegen der Pasteurschen Anschauung betrachtet Müller-Thurgau [2]) die Bildung von Glycerin als nicht abhängig von der Menge des zu vergärenden Zuckers, bezw. von der daraus hervorgehenden Alkoholmenge, sondern sieht im Glycerin vielmehr ein Stoffwechselprodukt der Hefe, deren kleinere oder größere Menge im Zusammenhang steht mit den jeweiligen Lebenszuständen derselben und den Faktoren, welche diese beeinflussen.

Ein Jahr später (1885) hat M. Barth [3]) Versuche veröffentlicht, welche dartun, daß ein bestimmter Gehalt von Essigsäure, und zwar 3—4 g pro Liter, die Menge des Glycerins bei der Gärung wesentlich herabdrücken. So fand er, daß in diesem Falle das Verhältnis vom Glycerin zum Alkohol 3 : 100 betrug.

Aehnliche Versuche hat L. Weigert [4]) mit Salicylsäure ausgeführt und dabei gleichfalls eine verminderte Bildung von Glycerin wahrgenommen, indem bei Anwesenheit von 20—40 g Salicylsäure pro Hektoliter das Glycerinverhältnis innerhalb 3,9—4,4 zu 100 Alkohol schwankte.

Aus den letztgenannten Versuchen von M. Barth und L.

1) Das gilt besonders von den Angaben von Bütschli, Schaudinn, Künstler und Chaine (Arch. d'anatomie microscopique. 1903), A. Mayer und seinen Schülern, Růžička etc.

2) Bericht über die Verhandlungen bei Gelegenheit der 10. Generalversammlung des deutschen Weinbauvereins in Geisenheim a. Rh., am 29. September 1884.

3) Weinlaube. Bd. XVII. 1885. p. 97.

4) Mitteilungen der chemisch-physiologischen Versuchsstation in Klosterneuburg. 1888. Heft 5. p. 58.

Weigert ist demnach ersichtlich, daß Stoffe, welche die Entwickelung der Hefe und dementsprechend auch die Gärung verzögern, gleichzeitig auch eine verminderte Glycerinbildung bewirken. Schon darin lag ein Anhaltspunkt dafür, daß die Bildung des Glycerins mit der Lebensenergie zusammenhängt und die Ansicht Müller-Thurgaus als wahrscheinlich erschien, obzwar positive Beweise dafür derselbe noch nicht erbracht hatte.

Auffällig erscheint es, wie Versuche von Moritz[1]) und später von Kulisch[2]) gezeigt haben, daß bei gezuckerten Mosten verhältnismäßig oft geringe Mengen Glycerin gefunden wurden, wobei die Glycerinverhältnisse nahe an 7 : 100 waren. Von wesentlichem Einflusse auf die Menge des bei der Gärung entstehenden Glycerins erachtet Müller-Thurgau[3]) den Stickstoffgehalt des Mostes und soll nach seinen Versuchen bei Vergärung stickstoffreicherer Moste mehr Glycerin gebildet werden als bei stickstoffärmeren. Er erklärte diese Erscheinung damit, daß eine bei reichlicher Stickstoffnahrung kräftiger sich ernährende und entwickelnde Hefe mehr Glycerin ausscheidet. Einen weiteren günstigen Einfluß auf die Glycerinbildung soll nach E. Mach und K. Portele[4]) das Lüften des Mostes während der Gärung besitzen, während nach Rau[5]) niedere Temperaturen die gegenteilige Wirkung haben. In hervorragendem Maße ist die Menge des Glycerins nach Wortmann[6]) abhängig von der Art der Heferasse selbst, was von anderen Forschern und den Verfassern selbst bestätigt wurde.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Erkenntnis, ob es sich bei Bildung von Glycerin im Laufe der alkoholischen Gärung um ein eigentliches Gärprodukt oder um ein bloßes Stoffwechselprodukt handelt, bedeuten die Untersuchungen von J. Wortmann „Ueber Vorkommen und Wirkung lebender Organismen[7]) in fertigen Weinen", indem dieser feststellte, daß schwach und kräftig gärende Hefe gleiche Mengen Glycerin zu erzeugen vermögen, daß also die Glycerinbildung mit der Alkoholbildung in keinem direkten Zusammenhange steht.

Was den Zeitpunkt anbelangt, in welchem sich während der Gärung das Glycerin bildet, so bestehen noch wenige, zum Teil sich widersprechende Angaben, was wohl auf den Mangel einer exakten Methode zur Bestimmung des Glycerins in Weinen mit mehr oder weniger großem Zuckergehalte zurückzuführen ist. So fanden E. Mach und K. Portele[8]), daß zu Beginn der Gärung im Verhältnis zum Alkohol weniger Glycerin gebildet wird, als zum Schlusse. Hingegen fand J. Laborde[9]) in Uebereinstimmung mit Effront,

1) Chemikerzeitung. Bd. X. 1886. p. 322.
2) Forschungsberichte über Lebensmittel etc. Bd. I. 1894. p. 369.
3) a. a. O.
4) Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLI. 1892. p. 276.
5) Zeitschr. f. analytische Chemie. Bd. XXXII. 1893. p. 84.
6) Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXI. 1892. p. 901. und Bd. XXIII. 1894. p. 536.
7) Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXXVII. 1898. p. 631.
8) Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLI. 1892. p. 470.
9) Comptes rendus de l'Académie. T. CXXIX. 1899. p. 344; referiert im Chem. Centralbl. Bd. II. 1899. p. 673.

daß bei der Gärung im Verhältnisse zum vergärenden Zucker anfangs mehr Glycerin gebildet wird als in späteren Stadien derselben.

Die nachfolgenden Untersuchungen hatten nun den Zweck, neuerdings dafür Anhaltspunkte zu gewinnen, ob das Glycerin lediglich ein Stoffwechselprodukt der Hefe darstellt, und erschien es aus diesem Grunde zunächst wichtig, festzustellen, in welcher Menge sich das Glycerin in den einzelnen Stadien der Gärung bildet und welche Faktoren hierbei in erster Linie von Einfluß sind. Die Beantwortung der zunächst liegenden und wichtigsten Frage, betreffend das Verhältnis der in den verschiedenen Stadien der Gärung entstehenden Glycerinmengen, konnte mit um so größerer Aussicht auf ein sicheres Ergebnis in Angriff genommen werden, als gerade in letzter Zeit durch die von Zeisel und Fanto[1]) ausgearbeitete Methode zur quantitativen Bestimmung des Glycerins im Weine etc. die Möglichkeit geschaffen wird, diesen Körper mit größerer Exaktheit als bisher quantitativ zu ermitteln. Bekanntlich wurde bisher das Glycerin im Weine nach der zuerst von Pasteur angegebenen und später von Anderen mehrfach modifizierten Methode, der sogenannten „Kalkmethode“, bestimmt, wobei es als „Rohglycerin“ zur Wägung gelangt; letzteres besteht aber, wie die Untersuchungen von Zeisel und Fanto feststellen, nur zum Teil aus Glycerin und enthält 40—50 Proz. Verunreinigungen, die neben einem erheblichen Prozentsatz an Kalk noch aus anderen Extraktstoffen des Weines bestehen. Obzwar nun die nach der älteren Bestimmungsmethode, dem Kalkverfahren, erhaltenen Resultate, wie Zeisel und Fanto selbst gefunden haben, bei gewöhnlichen, vollständig vergorenen Weinen mit jenen des neuen, von den Genannten ausgearbeiteten Jodidverfahrens annähernd übereinstimmen und daher die ältere Bestimmungsmethode für die Zwecke der Handelsanalyse und für die Beurteilung ausgegorener Weine auch fernerhin ausreichen dürfte, so kann dasselbe doch keineswegs für jene Fälle gesagt werden, bei denen es sich um wissenschaftliche Feststellungen und um eine möglichst exakte Bestimmung des Glycerins handelt; es kann durchaus nicht genügen, wenn die beim Kalkverfahren eintretenden Glycerinverluste zufällig durch das Hinzutreten anderer Weinbestandteile, Kalk u. dergl., kompensiert werden.

Besonders unzuverlässige und von dem wahren Glyceringehalt noch mehr abweichende Resultate erhält man bei zuckerreichen Weinen und halb vergorenen Mosten. Die Differenzen betragen da nicht selten 1—2 g im Liter und darüber. In richtiger Erkenntnis dieses Mangels an Genauigkeit war man schon seit langem bestrebt, eine zuverlässigere Methode an Stelle des Kalkverfahrens zu setzen, welches Bestreben von S. Zeisel und Fanto in jüngster Zeit durch Ausarbeitung des Jodidverfahrens dem Ziele wesentlich näher gerückt worden ist. Letzteres beruht auf der Ueberführung des Glycerins in Isopropyljodid und Auffangen des letzteren in alkoholischer Silbernitratlösung. Das hierbei sich bildende Jodsilber wird nach dem Auswaschen und Trocknen zur

1) Zeitschr. f. analytische Chemie. Bd. XLII. 1903. p. 549.

Wägung gebracht und dem Reaktionsverhältnisse entsprechend als Glycerin berechnet, wobei 1 g Jodsilber 0,3922 g Glycerin gleichkommt. Wenn nun die wenigen, bisher vorliegenden Untersuchungen über die Glycerinproduktion im Laufe der Gärung zu widersprechenden Schlüssen geführt haben, so sind sie wohl vorzugsweise in der Unzulänglichkeit der Glycerinbestimmungsmethode begründet. Die Verfasser haben nun neben vergleichenden Bestimmungen nach dem Kalk- und Jodidverfahren den Versuch gemacht, die eingangs erwähnten, ausschließlich gärungs-physiologischen Fragen experimentell zu beantworten.

Vergleichende Glycerinbestimmungen.

Bevor zur Anstellung der Versuche selbst geschritten wurde, erschien es uns zweckmäßig, noch einige vergleichende Untersuchungen über den Glyceringehalt von Süßweinen nach der Kalk- und Jodidmethode vorzunehmen, um selbst zu erproben, inwieweit die Resultate dieser beiden Bestimmungsarten voneinander abweichen. Zu diesem Zwecke wurden ein gewöhnlicher, weißer, vollständig vergorener Tischwein, ferner 2 verschiedene Klosterneuburger Strohweine, ein alter feiner Malaga und eine Tokayer Essenz von verläßlicher Provenienz auf ihren Gehalt an Alkohol und Glycerin untersucht. Die Glycerinbestimmungen nach der Kalkmethode wurden sowohl nach der im Entwurf des Codex alimentarius austriacus enthaltenen Vorschrift für Süßweine[1]), als auch nach der in der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien gehandhabten Bestimmungsart[2]) ausgeführt.

Nach der Jodidmethode wurden bei dem Süßweine die Bestimmungen durchweg doppelt ausgeführt, um speziell bei diesen Weinen Anhaltspunkte betreffs der Genauigkeit dieses Verfahrens zu gewinnen. Tatsächlich zeigen bei dieser Methode die Resultate selbst bei sehr zuckerreichen Süßweinen noch eine befriedigende Uebereinstimmung. Während sich bei den Glycerinbestimmungen in vollständig ausgegorenen Weinen, die nach beiden Methoden ausgeführt wurden, keine wesentlichen Differenzen ergeben, weichen bei süßen Weinen die Resultate nach der Kalkmethode, mögen sie nun nach der einen oder anderen Vorschrift ausgeführt sein, stets sehr wesentlich von den nach der Jodidmethode erhaltenen Werten ab. Zieht man den Zucker von dem Gewichte des gewonnenen Rohglycerins ab, was man besonders bei der in der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel üblichen Methode stets tun muß, so fallen die Werte für Glycerin nach den Kalkmethoden fast regelmäßig zu niedrig aus gegenüber den nach der Jodidmethode gewonnenen. Wie selbst in jenen Fällen, in denen eine annähernde Uebereinstimmung der Resultate nach der Kalk- und Jodidmethode beobachtet werden kann, bei näherer Untersuchung des Rohglycerins sich dann große Differenzen herausstellen, zeigen die Bestimmungen in dem Strohwein II. Danach wurden nach dem Jodidverfahren 9,06 bezw. 8,87 g Glycerin im

1) Siehe österreichische Chemiker-Zeitung. Bd. IV. 1898. p. 297.
2) Siehe Zeisel u. Fanto, Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. XLII. 1903. p. 572.

Liter gefunden. Nach dem Bestimmungsverfahren der Lebensmitteluntersuchungsanstalt in Wien wurden 15,81 g pro Liter Rohglycerin erhalten, welche jedoch nach erfolgter weiterer Untersuchung 7,4 g Zucker, pro Liter berechnet, enthielten. Anscheinend wäre sonach der Glyceringehalt nach dieser letzteren Methode 8,4 pro Mille, eine Menge, welche zwar etwas kleiner als die nach der Jodidmethode erscheint, sich aber doch immerhin diesen Werten nähert. Bei Untersuchung des nach diesem Kalkverfahren gewonnenen Glycerins auf seinen wirklichen Glyceringehalt nach der Jodidmethode zeigte sich, daß tatsächlich nur 3,69 g wirkliches Glycerin vorhanden waren, daß also das zuckerfreie Rohglycerin nur 45,0 Proz. enthielt. Ebenso zeigte sich bei dem Malaga, daß das nach der Methode des Lebensmittelamtes gewonnene Glycerin in der Menge von 9,4 g 6,8 g Zucker enthielt, sonach der wirkliche Glyceringehalt nur 2,64 sein würde. Tatsächlich aber ist der wirkliche Glyceringehalt, wie mit großer Uebereinstimmung aus den beiden Bestimmungen der Jodidmethode hervorgeht, 7,42 bezw. 7,55. In gleicher Weise wurde auch bei der Tokayer Essenz das gewonnene Glycerin der Menge von 19,7 g noch zuckerhaltig befunden. Vergleicht man jedoch die Gesamtmenge des so erhaltenen Rohglycerins mit den nach der Jodidmethode erhaltenen Werten von 20,10 bezw. 20,08 pro Liter, so ergibt sich auch hier eine zufällige, ziemlich befriedigende Uebereinstimmung, welche jedoch wesentlich alteriert wird, sobald man auf die Menge des vorhandenen Zuckers Rücksicht nimmt.

Diese wenigen Beispiele genügen, um die Unzulänglichkeit der Glycerinbestimmung mittels der Kalkmethode bei Süßweinen darzutun, gleichgültig, ob dieselbe nach der einen oder der anderen Modifikation ausgeführt wird; es dürfte daher empfehlenswert sein, besonders für Süßweine die Jodidmethode in Anwendung zu bringen, um mit größerer Sicherheit die Menge des vorhandenen Glycerins festzustellen und nachträgliche Kontrollanalysen nach dem letztgenannten Verfahren überflüssig zu machen. In nachfolgender Tabelle sind die Zahlen, die bei den eben besprochenen vergleichenden Untersuchungen gewonnen wurden, zusammengetragen.

(Siehe Tabelle I. p. 579.)

Bei Anstellung der nachstehenden Versuche wurde zunächst darauf ausgegangen, eine Orientierung darüber zu gewinnen, in welchem Stadium der Gärung die relativ größte Glycerinmenge gebildet wird.

Experimenteller Teil.

Versuch I.

Zu diesem Zwecke wurden 16 l sterilisierten Mostes in einer 2 l-Flasche am 22. Februar 1904 mit 4 ccm Hefeaufschwemmung von Gumpoldskirchner Reinhefe versetzt und dann die Flasche mit einem Gärspunde, in welchem als Absperrflüssigkeit verdünnte Schwefelsäure Verwendung fand, verschlossen. Die Flasche wurde bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hingestellt. Die Entnahme von Proben erfolgte im Verlaufe der Gärung jeden zweiten Tag. Nur am Schlusse derselben ließ man einen mehr-

Tabelle I.

Bezeichnung des Weines	Vorschrift: nach der Jodidmethode		nach der Methode des Codex aliment. austriacus	nach der Methode der k. k. Lebensmitteluntersuchungsanstalt in Wien	Alkohol in Volumprozenten
	Jodsilber	Glycerin g im Liter			
Weißwein zuckerfrei	0,0803	6,30	6,36	—	—
I. Strohwein	1) 0,1200	9,41	5,87	—	11,4
	2) 0,1253	9,81			
II. Strohwein	1) 0,1156	9,06	11,83 (Zucker)	15,81	9,4
	2) 0,1131	8,87	θ	(darin 7,4 Zucker)	
Malaga (alt und fein)	1) 0,0946	7,42	3,84 (Zucker)	9,44	13,2
	2) 0,0963	7,55	0	(darin 6,8 Zucker)	
Tokayer Essenz (vorzügl. Qualität, sehr alt)	1) 0,2563	20,10	16,56 (Zucker)	19,70	9,6
	2) 0,2561	20,00	0	(darin 5,1 Zucker)	

tägigen Intervall eintreten. Die unternommenen Proben wurden auf Glycerin nach der Jodidmethode und auf Alkohol untersucht, nachdem vorher durch anhaltendes Schütteln und Filtration die Flüssigkeit von Kohlensäure und Hefe befreit worden war. Die erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle II.

Datum	Glycerin g im l	Glycerin Differenz	Alkohol Volumproz.	Zucker g im l	Zucker Differenz
22. Februar	1,61	θ	0	158,25	—
25. „	1,98	0,37	0,2	147,60	11,65
27. „	3,56	1,58	2,1	116,10	31,5
29. „	4,89	1,33	4,8	73,0	43,1
2. März	6,22	1,33	7,6	23,83	44,17
4. „	6,36	0	9,1	6,48	22,35
10. „	6,36	θ	9,3	unter 1 g	6,0

Wie aus obenstehenden Zahlen ersichtlich ist, wäre die relativ größte Menge an Glycerin vom 3. auf den 5. Tag, also nahe am Beginn der Gärung gebildet werden. Da in den darauffolgenden Tagen wohl etwas kleinere, aber untereinander gleiche Mengen (1,33 g) gefunden wurden und somit die Zeitintervalle zwischen den einzelnen Bestimmungen als zu groß erschienen, um die stufenweise Bildung von Glycerin genauer präzisieren zu können, wurde ein zweiter Versuch in gleicher Weise angestellt, jedoch mit dem Unterschiede, daß bei eintretender Gärung wenigstens in den ersten 4 Tagen Glycerin, Alkohol und Zucker täglich bestimmt wurden; erst im weiteren Verlaufe der Gärung wurden größere Zeitintervalle zwischen den einzelnen Bestimmungen gelassen.

Versuch II.

Dieser zweite Versuch, welcher die Glycerinbildung in den verschiedenen Stadien der Gärung genau präzisieren und als Bestätigung des im ersten Versuch erhaltenen Befunde dienen sollte, wurde mit 1,81

sterilen Mostes, derselben Heferasse und bei denselben Temperaturverhältnissen ausgeführt. Die Anstellung desselben erfolgte am 19. März. Am 21. März war bereits schwache Gärung bemerkbar und wurde demnach an diesem Tage mit der Probeentnahme begonnen. Die Resultate der aufeinander folgenden Untersuchungen finden sich in nachstehender Tabelle.

Tabelle III.

Datum	Glycerin		Alkohol	Zucker	
	g im l	Differenz	Volumproz.	g im l	Differenz
19. März	1,96	—	—	174,3	—
21. „	2,08	0,12	—	172,9	1,4
22. „	2,19	0,11	0,25	168,0	4,9
23. „	3,62	1,43	1,7	143,0	25,0
24. „	5,86	2,24	3,9	104,7	38,3
25. „	6,86	1,00	5,9	68,6	36,1
28. „	7,31	0,45	9,3	16,10	52,5

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, fand am 6. Tage nach Anstellung des Versuches, bezw. am 3. Tage nach eingetretener Gärung analog dem ersten Versuch die größte Zunahme an Glycerin statt, indem sich in der Zeit vom 5. auf den 6. Tag 2,24 g Glycerin gebildet hatten und die Gesamtmenge an Glycerin auf 5,86 gestiegen war. Gleichzeitig hatte auch die Gärung ihren Höhepunkt erreicht, insofern von dem 5. auf den 6. Tag 38,3 g Zucker pro Liter vergoren, bezw. 2,2 Volumprozente Alkohol gebildet wurden. Trotzdem vom 24. auf den 25. März, also vom 6. zum 7. Tage noch 36,1 g Zucker pro Liter vergoren, bezw. 2 Volumprozente Alkohol entstanden, so war die Glycerinzunahme bereits eine viel schwächere, indem sich das Glycerin nur um 1 g in dieser Zeit vermehrte. Auffallend gering, ja fast unbedeutend war die Zunahme an Glycerin in den darauffolgenden Tagen vom 25.—30. März, wo bei einer Vergärung von 65½ g Zucker nur 0,45 g Glycerin hinzukamen, so daß schließlich die Gesamtmenge an Glycerin 7,13 g betrug.

Aus den beiden Versuchen geht sonach hervor, daß die Glycerinbildung zur Zeit der größten Intensität der Gärung gleichfalls am intensivsten ist und ungefähr nach Entstehung von 4—6 Volumprozenten Alkohol die Glycerinbildung wieder allmählich schwächer wird. Weiteres ersieht man daraus, daß mit zunehmendem Alkohol immer weniger und in den Endstadien der Gärung so gut wie gar kein Glycerin mehr gebildet wird.

Versuch III.

In dem nun folgenden Versuche wurde zu ermitteln gesucht, in welchem Verhältnisse Glycerinbildung und Hefevermehrung zueinander stehen. Zu diesem Behufe wurden 8 Kolben, die mit je 300 ccm desselben sterilisierten Mostes gefüllt waren, 2 ccm einer Hefeaufschwemmung aus einer 3 Tage alten Kultur der schon erwähnten Gumpoldskirchner Heferasse eingetragen. Die Anzahl der Hefezellen in 1 ccm der Hefeaufschwemmung betrug 41,2 Mill., daher enthielt 1 ccm des in der eben beschriebenen Weise geimpften Mostes 0,27 Mill. Hefezellen. Die Versuchsanstellung erfolgte am 11. April und wurden sämtliche Kolben bei Zimmertemperatur hingestellt. In den nächsten

darauffolgenden Tagen wurde täglich ein Kölbchen geöffnet und der Inhalt desselben auf Alkohol und Glycerin untersucht, sowie die Anzahl der Hefezellen in 1 ccm festgestellt. Obzwar bereits am 12. April, das ist am 2. Tage, eine bedeutende Hefevermehrung zu beobachten war, so wurde die Gärung doch erst am 3. Tage sichtbar. In nachstehender Tabelle sind die gefundenen Werte in der beschriebenen Versuchsreihe zusammengestellt.

Tabelle IV.

Datum	Alkohol		Glycerin		Anzahl der Hefezellen		Verhältnis des entstandenen Glycerins zu Alkohol (100 Teile)
	Volumproz.	Differenz	g im l	Differenz	Millionen in 1 ccm	Differenz	
11. April	0	0	1,62	θ	0,27	—	—
12. „	0	0	1,62	0	3,9	3,6	—
13. „	0,2	0,2	2,34	0,72	20,7	16,8	45,3
14. „	1,25	1,05	3,07	0,73	51,6	30,9	14,6
15. „	verunglückt		4,57	1,50	67,3	15,7	—
16. „	4,2	2,95	5,00	0,43	103,3	36,0	10,1
26. „	6,9	2,7	5,38	0,38	56,4	46,9	6,9

Versuch IV.

Wie aus der vorstehenden Tabelle zu entnehmen ist, war der Gärverlauf infolge der ungleichmäßigen Temperatur und der namentlich zur Nachtzeit und in den ersten Morgenstunden verhältnismäßig niedrigen Zimmertemperatur ein langsamer; infolgedessen wurde zur Kontrolle dieser ersten Versuchsreihe und zur Bestätigung der Ergebnisse eine zweite Versuchsreihe, jedoch bei 20° C aufgestellt. Dabei wurde ein zuckerreicherer Most verwendet, um ein alkoholreiches Produkt zu erzielen. Im nachstehenden erfolgt die Zusammenstellung der Resultate dieses zweiten Versuches. Die Untersuchung der Versuchskolben wurde hier fast regelmäßig jeden zweiten Tag vorgenommen und ebenfalls die Alkohol- und Glycerinmengen und die Anzahl der Hefezellen in 1 ccm festgestellt.

Tabelle V.

Datum	Alkohol		Glycerin		Anzahl der Hefezellen		Verhältnis des entstandenen Glycerins zu Alkohol (100 Teile)
	Volumproz.	Differenz	g im l	Differenz	Millionen in 1 ccm	Differenz	
25. April	θ	—	1,68	—	0,29	—	—
27. „	1,0	1,0	3,41	1.73	36,60	36,31	21,7
29. „	3,7	2,7	4,58	1,17	87,0	50,4	9,8
2. Mai	7,0	4,3	5,31	0,73	65,5	—21,5	6,5
4. „	7,6	0,6	5,98	0,67	59,0	— 9,3	7,1
6. „	8,2	0,6	6,14	0,16	—	—	6,8
14. „	8,8	0,6	6,22	0,08	—	—	6,5

Betrachtet man die Werte für Glycerin in diesen beiden Tabellen, so fällt es zunächst auf, daß der ursprüngliche, für die Versuche verwendete Most bereits ansehnliche Glycerinmengen enthält. Dasselbe finden wir auch bei den 2 ersten Versuchen, woselbst in dem einen Falle 1,61 und in dem anderen 1,96 g Glycerin

in 1 l enthalten sind. Auf diesen Umstand haben bereits Zeisel und Fanto in ihrer Arbeit über die Bestimmung des Glycerins aufmerksam gemacht, und können wir uns nur darauf beschränken, neuerdings auf die Tatsache hinzuweisen, daß im frischen Traubenmost bereits Glycerin oder ein mit Jodwasserstoff in Reaktion tretender, nicht flüchtiger Körper vorhanden ist. Da sich dieser Körper jedoch bei Beginn des Versuches insofern quantitativ feststellen läßt, daß die erhaltenen Mengen Jodsilber auf Glycerin berechnet werden, so übt dieser Umstand auf die weiteren Ergebnisse der Versuche keinen Einfluß aus.

Vor allem wichtig erscheinen demnach nicht so sehr die absoluten Glycerinmengen, sondern die relativen Zunahmen derselben. Aus beiden Versuchen geht in Uebereinstimmung hervor, daß die relativ größte Zunahme an Glycerin zu einer Zeit stattfindet, in der noch verhältnismäßig wenig Alkohol gebildet ist und noch nicht vollständig das Maximum der Hefemenge erreicht ist. Was besonders die Hefezunahme betrifft, so ist es in beiden Versuchen unverkennbar, daß die intensivste Glycerinbildung parallel läuft mit der regsten Hefeentwickelung und daß, sobald das Maximum der Hefemenge erreicht ist, die Zunahme an Glycerin stetig kleiner wird. Hält man die Alkoholzunahme dagegen, so gelangt man zu dem Schlusse, daß die Glycerinbildung mit der Alkoholproduktion in keinem Zusammenhange steht, da gerade in den letzten Stadien der Gärung, in denen die Zunahme an Alkohol eine ziemlich bedeutende ist, verhältnismäßig nur wenig Glycerin entsteht, während in den ersten Stadien der Gärung, in denen sich noch verhältnismäßig wenig Alkohol gebildet hat, bereits große Mengen Glycerin nachzuweisen sind. Besonders deutlich ist die Unabhängigkeit der Glycerin- und Alkoholbildung zu ersehen, wenn man das bei der Gärung entstandene Glycerin zu 100 Teilen Alkohol in Verhältnis bringt. So finden wir im ersten Versuch, am Anfang der Gärung ein Glycerinverhältnis von 45,3 : 100, welches im weiteren Verlauf der Gärung auf 14,6 bezw. 10,1 und am Schlusse der Gärung auf 6,1 : 100 herabgeht. Ebenso zeigt der zweite Versuch bei Beginn der Gärung ein Verhältnis von 21,7 Teilen Glycerin zu 100 Teilen Alkohol; im weiteren Verlauf sinkt das Verhältnis auf 9,8 und schließlich auf 6,5 zu 100. Würde man die gesamte Menge des vorhandenen Glycerins in den einzelnen Stadien der Gärung bei Berechnung des Verhältnisses in Betracht ziehen, so würde sich dadurch eine wesentliche Verschiebung desselben zu gunsten des Glycerins ergeben, wobei namentlich in den ersten Stadien der Gärung außerordentlich abnorme Glycerinverhältnisse sich zeigen würden. Es dürfte daher wohl der Schluß zulässig sein, daß wir es im Glycerin nicht mit einem direkten Gärungsprodukte, wie es der Alkohol ist, zu tun haben, sondern lediglich mit einem Stoffwechselprodukte, dessen Entstehung mit der Entwickelung der Hefe in innigem Zusammenhang steht.

In weiterer Folge müßten demnach durch solche Einflüsse, welche günstig oder schädlich auf die Entwickelung der Lebensvorgänge der Hefe einwirken, wie dies zum Beispiel bei größerem Stickstoff- und Zuckergehalt einerseits, bei größerem Alkoholgehalt

andererseits der Fall ist, die Glycerinproduktion erhöht, bezw. herabgesetzt werden.

Was den Stickstoff anbelangt, so hat bereits Müller-Thurgau auf den günstigen Einfluß reichlicher Stickstoffnahrung auf die Glycerinbildung hingewiesen. Inwiefern ein höherer Zuckergehalt bestimmend auf die Glycerinproduktion einwirkt, wird im nachstehenden in einem der nächstfolgenden Versuche gezeigt werden.

Versuch V.

Da, wie schon eben angedeutet, der Alkohol nach den Ergebnissen der bisherigen Versuche nicht nur auf die Vermehrung der Hefe, sondern auch auf die Glycerinproduktion einen retardierenden Einfluß zu nehmen scheint, so wurde zur näheren Prüfung dieses Verhaltens eine weitere Versuchsreihe aufgestellt.

Zu diesem Behufe wurden 8 Kolben mit je 200 ccm Most gefüllt und sterilisiert. Dem erkalteten, sterilen Most wurden unter Beobachtung der üblichen Vorsichtsmaßregeln steigende Mengen Alhohol zugesetzt und zwar in der Weise, daß ein Kolben ohne Alkoholzusatz verblieb, um als Kontrolle zu dienen, während von den übrigen je einer mit 2, 4, 8, 10, 14 und 18 ccm absoluten Alkohols versetzt wurde. Hierauf wurde jeder Kolben mit 2 ccm Hefeaufschwemmung einer 10 Tage alten Kultur (Gumpoldskirchner Reinhefe) geimpft, die Kolben mit Gäraufsätzen verschlossen und bei Zimmertemperatur zur Vergärung hingestellt. Der Verlauf der Gärung wurde von Zeit zu Zeit durch Wägungen kontrolliert, und der Inhalt der Kolben zur Untersuchung herangezogen, sobald das Gewicht der Kolben nicht mehr abnahm und dadurch die Beendigung der Gärung angezeigt wurde. Der ursprüngliche Most enthielt:

Zucker	154,4	g im l
Glycerin (nach Zeisel)	1,44	„ „ „

Die Glycerinbestimmungen wurden, wie bei den vorhergehenden Untersuchungen, nach der Methode Zeisel-Fanto vorgenommen. In nachstehender Tabelle sind die Resultate, welche sich bei der Untersuchung der einzelnen Kolben ergaben, zusammengestellt.

Tabelle VI.

Kolben No.	Alkoholgehalt in Volumprozenten		Gesamtes Glycerin	Verhältnis des vorhandenen Glycerins zu 100 Tl. Alk.	Bei der Gärung gebildetes Glycerin
	vor der Gärung	nach der Gärung	g im l		
I	0,0	9,0	6,29	8,8	4,85
II	1,0	10,1	5,82	7,2	4,38
III	2,0	10,8	5,85	6,8	4,41
IV	2,9	12,0	5,34	5,6	3,90
V	3,8	12,7	5,12	5,0	3,68
VI	4,7	13,5	4,78	4,4	3,34
VII	6,5	15,4	4,60	3,7	3,16
VIII	8,2	16,9	4,80	3,6	3,36

Wie aus den in der Tabelle zusammengestellten Zahlen hervorgeht, ersieht man, daß desto weniger Glycerin gebildet wird, je mehr Alkohol vor der Gärung im Moste enthalten ist. Eine Ausnahme

bei diesem Versuche bietet bloß jener Most, in welchem 8,2 Volumprozent vor der Gärung enthalten waren, in dem bei der Untersuchung nach der Vergärung um 0,2 g Glycerin pro Mille mehr gefunden wurden als bei dem Most mit dem ursprünglichen Gehalt von 6,5 Volumprozent. Worauf diese, wenn auch kleine Unregelmäßigkeit zurückzuführen ist, läßt sich schwer entscheiden; vielleicht kann sowohl die Bestimmungsmethode als auch die Vergärung in separaten Kolben, wie sie bei diesem Versuche notwendig durchgeführt werden mußte, immerhin als Ursache angesehen werden. Die gesamte Glycerinmenge ist sonach von 6,29 auf 4,60 g pro Liter zurückgegangen, was einen Verlust von 1,6 g Glycerin, bezw. einen Rückgang um 34,8 Proz. bedeutet. Man ersieht aber ferner daraus, daß ein Alkoholgehalt von 8,2 Volumprozenten vor der Gärung die nachträgliche Entstehung von Glycerin bei einer neuerdings eintretenden Gärung wohl bedeutend beeinträchtigt, aber keineswegs verhindert, indem sich hier immer noch 3,36 g, bezw. 3,16 g Glycerin gebildet haben. Eine wesentliche Verschiebung erfährt das Verhältnis des Gesamtglycerins zu dem Alkohol. Während sich nämlich in dem Most ohne Alkoholzusatz und selbst in den Mosten bis zu einem von 2 Volumprozent das Glycerinverhältnis noch innerhalb der normalen Grenzen bewegt, verändert sich von da an das Verhältnis zu Ungunsten des Glycerins stetig in dem Maße, als der Alkoholzusatz zu dem ursprünglichen Moste sich steigert, so daß bei einem Zusatz von 8,2 Volumprozenten das Verhältnis vom Glycerin zum Alkohol bloß 3,6 : 100 beträgt. Wenngleich sich daraus die praktische Konsequenz ableiten läßt, daß bei Weinen, welche einen großen Zuckerzusatz behufs Erhöhung des Alkoholgehaltes erhalten haben, das Glycerinverhältnis eine Veränderung zu Ungunsten des Glycerins erfahren wird, so ist es doch sehr unwahrscheinlich, daß nach stärkerer Zuckerung und Nachgärung ein abnormales Glycerinverhältnis in den betreffenden Weinen entsteht.

Die angeführten Zahlen lassen sonach erkennen, daß der Alkohol die Glycerinbildung wesentlich zu beeinträchtigen vermag, indem er, wie jedes Antiseptikum, sowohl die Vermehrung als die Lebenstätigkeit der Hefe beschränkt. Da nun die Glycerinbildung mit der Lebhaftigkeit der Hefevermehrung nach den vorangegangenen Versuchen in innigem Zusammenhange steht, so geht daraus von selbst hervor, daß die Glycerinproduktion in demselben Maße eine schwächere wird, als mit den zunehmenden Alkoholmengen sich die antiseptische Wirkung derselben erhöhen wird. Dabei darf allerdings wohl nicht übersehen werden, daß die Alkoholwirkung jedenfalls eine intensivere ist, wenn die Hefe in eine bereits alkoholhaltiges Gärmedium gebracht wird, während sie sich andererseits in dem Falle, wo erst durch ihre eigene Tätigkeit Alkohol entsteht, allmählich an den Alkohol gewöhnt und dadurch widerstandsfähiger verhält; in letzterem Falle wird deshalb der retardierende Einfluß auf die Glycerinbildung ein schwächerer sein.

Versuch VI.

Wie groß die Glycerinzunahme bei künstlich hervorgerufenen Nachgärungen sein kann, wurde an der Hand folgender Versuche beobachtet. Zu einem Verschnitt von einem Teil weißgepreßten blauen

Burgunder, 2 Teilen Veltliner und 2 Teilen Gutedel, welcher einen Alkoholgehalt von 9,8 Volumprozent besaß, wurden 50 g Zucker pro Liter hinzugesetzt, sodann eine Partie davon mit Ay-Champagnehefe, die andere Partie mit Klosterneuburger Hefe in Gärung gebracht. Nachdem in dem mit Ay-Champagnehefe versetzten Wein die Gärung nahezu beendet war, wurden beide Weine auf ihren Gehalt an Alkohol, Glycerin und Zucker untersucht. Der ursprüngliche, ungezuckerte Verschnittwein enthielt nur mehr Spuren von Zucker und 7,67 g Glycerin im Liter neben den bereits erwähnten 9,8 Volumprozenten Alkohol. Das Glycerinverhältnis war sonach 9,8 : 100.

Die mit den genannten Heferassen in Nachgärung versetzten Weine enthielten:

	Mit Ay-Champagne-hefe	Mit Klosterneu-burger Hefe
Alkohol (Volumproz.)	12,6	11,2
Glycerin (g im l)	8,90	8,91
Zucker (g im l)	4,4	29,8
Glycerinverhältnis	8,8	10,0

Die Glycerinmenge hatte sonach in beiden Fällen um 1,2 g pro Liter zugenommen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß in dem mit Klosterneuburger Hefe umgegorenen Weine von 50 g Zucker zur Zeit der Untersuchung noch 29,8 unvergoren waren, während bei dem Versuche mit Ay-Champagnehefe noch 4,4 unvergoren waren. Da infolgedessen in beiden Versuchen ein verschiedener Alkoholgehalt resultierte, so mußte auch das Glycerinverhältnis differieren, indem es in dem einen Fall etwas niedriger, in dem anderen etwas höher ausfiel, als in dem ursprünglichen Wein. Da nun, wie aus den früheren Versuchen hervorgeht, die relativ größte Menge an Glycerin sich in den ersten Stadien der Gärung bildet, so kann man wohl annehmen, daß bei dem Umgärungsversuch mit Klosterneuburger Hefe, welche erfahrungsgemäß langsamer arbeitet, aber schließlich bei entsprechendem Zuckerzusatz einen Alkokolgehalt von 14 Volumprozenten zu erzielen im stande ist, nach vollendeter Vergärung sowie bei dem Versuch mit Ay-Champagnehefe ein niedrigeres Glycerinverhältnis als im ursprünglichen Weine hervorgehen würde.

Dieser Versuch zeigt gleichzeitig, daß durch Nachgärung auch in einem Weine mit 9,8 Volumprozent Alkohol eine wohl schwache, doch noch sehr merkliche Glycerinzunahme stattfinden kann. Man ersieht aber auch daraus, daß auch bei Umgärungen mit weniger als 50 g Zucker pro Liter, wie beispielsweise der Versuch mit der Klosterneuburger Hefe zeigt, woselbst nur 20 g zur Vergärung gelangt waren, die Vermehrung des Glycerins bereits eine ebenso große sein kann. Allerdings darf man dabei nicht unberücksichtigt lassen, daß auch die Individualität der Hefe mit ins Gewicht fällt und eine stärkere, bezw. schwächere Glycerinbildung auch von dieser abhängig ist.

Versuch VII.

Inwieweit der Zuckergehalt des Mostes bei der Vergärung auf die Menge des entstehenden Glycerins von Einfluß ist, wurde durch Anstellung einer weiteren Versuchsreihe untersucht. Zu diesem Behufe wurde ein Klosterneuburger Most von gemischten weißen Trauben-

derart mit Wasser verdünnt, daß er 93,6 g Zucker im Liter enthielt. Ein so niedriger Zuckergehalt wurde deshalb als erste Konzentrationsstufe gewählt, um die Glycerinbildung auch in einem so abnormal zusammengesetzten Most beobachten zu können. Weiter wurde derselbe Most in besonderen Partieen mit aufsteigenden Zuckermengen versetzt, so zwar, daß die nächste Partie 20 g die folgenden 50, 70, 100 und 120 g Rohrzucker pro Liter zugesetzt erhielten, so daß die Gesamtmenge an Invertzucker in den einzelnen Mosten 114,6 bezw. 146,1, 167,1, 198,6 und 219,6 g, im Liter betrug. Sämtliche Versuchskolben wurden mit den gleichen Mengen Gumpoldskirchner Hefe versetzt, mit Gäraufsätzen verschlossen und bei Zimmertemperatur hingestellt. Nachdem die Moste in sämtlichen Versuchskolben ausgegoren hatten, wurde der Glyceringehalt bestimmt und auf etwa vorhandenen unvergorenen Zucker geprüft. Dabei zeigte sich, daß selbst der zuckerreichste Most vollständig vergoren war und einen Alkoholgehalt von 13,0 Volumprozenten erreicht hatte im Gegensatze zu dem zuckerärmsten Moste, welcher nach der Vergärung bloß einen Alkoholgehalt von 5,4 Volumprozent aufwies. Danach ergaben sich folgende Glycerinmengen:

Tabelle VII.

			Glycerin g im l
No. I	mit ursprünglichem Zuckergehalt von	93,6	5,28
No. II	do.	114,6	5,71
No. III	do.	146,1	6,25
No. IV	do.	167,1	6,34
No. V	do.	198,6	6,41
No. VI	do.	219,6	7,02

Die vorstehenden Werte für die gebildeten Glycerinmengen lassen deutlich erkennen, daß mit steigendem Zuckergehalt des Mostes das Glycerin wohl zunimmt, daß diese Zunahme sich aber keineswegs im gleichen Verhältnis bewegt, sondern eine relative Abschwächung erfährt, je mehr Zucker der Most enthält. Es läßt sich dieses Verhalten insoweit erklären, daß der Hefe um so mehr Energie zugeführt wird, je mehr Zucker ihr zur Verfügung steht. Es ist selbstverständlich, daß die Steigerung des Zuckergehaltes insofern eine Begrenzung erfahren muß, als bei einem gewissen Prozentgehalte an Zucker sowohl Wachstum als Gärtätigkeit der Hefe allmählich anfängt, nachteilig beeinflußt zu werden und dadurch auch die Glycerinbildung eine wesentliche Beeinträchtigung erfahren muß. Diese Grenze scheint eben im vorliegenden Versuche noch nicht erreicht zu sein. Wenn aber doch bei steigendem Zuckergehalt trotz der Zunahme der absoluten Glycerinmenge sich relativ eine Abschwächung in der Glycerinproduktion zeigt, so ist dies offenbar auf die retardierende Wirkung des bei der Gärung entstehenden Alkohols auf Wachstum und Gärtätigkeit der Hefe zurückzuführen. Man sieht dies am deutlichsten aus dem Verhältnis des Glycerins zum Alkohol in den beiden extremsten Fällen, bei dem Versuchswein No. 1 und 6. Während in dem Weine aus dem zuckerärmsten Moste auf je 100 Teile Alkohol 12,3 Teile Glycerin kommen, zeigt jener aus dem zuckerreichsten Moste bloß ein Glycerinverhältnis von 6,8 : 100. Es ist damit erklärlich, daß Weine

aus sehr zuckerarmen Mosten, welche beispielsweise aus peronosporakranken oder halbreifen Trauben gewonnen werden, hohe Glycerinverhältnisse aufweisen. Dieser Versuch zeigt aber auch neuerdings, daß Alkohol- und Glycerinbildung bezüglich des Mengenverhältnisses nicht parallel einhergehen, vielmehr zwei voneinander unabhängige Vorgänge sein müssen, nachdem es sich bei diesem Versuche wie auch bei den vorhergehenden gezeigt hat, daß der Alkohol die Glycerinbildung sogar beeinträchtigt.

Fassen wir die Resultate sämtlicher Versuche noch einmal kurz zusammen, so gelangen wir zu folgenden Schlüssen.

Die Glycerinbildung ist zur Zeit der intensivsten Gärung und Hefevermehrung am größten und findet sonach in den ersteren Stadien der Gärung statt, während sie gegen Schluß der Gärung nahezu auf Null herabsinkt.

Die Glycerinbildung steht mit der Alkoholproduktion in keinem Zusammenhange und ist das Glycerin als kein direktes Gärungsprodukt, sondern als Stoffwechselprodukt der Hefe anzusehen, dessen Menge von der Lebensenergie und Eigenart derselben abhängt.

Die Anwesenheit größerer Mengen Alkohol vermag zwar die Glycerinbildung stark abzuschwächen, aber nicht vollständig zu verhindern.

Stoffe, welche in günstiger Konzentration die Lebensenergie der Hefe zu steigern vermögen, wie beispielsweise Zucker, rufen gleichzeitig eine erhöhte Glycerinbildung hervor.

Ueber eine die Gelatine verflüssigende Milchsäurebakterie.

[Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Figur.

Bis zur Jetztzeit gibt es in der Literatur keine Mitteilungen über echte Milchsäurebakterien, welche die Gelatine verflüssigen, also mittels eines Enzyms eiweißartige Körper angreifen und löslich machen. Zwar hat man versucht, direkt nachzuweisen, daß Milchsäurefermente im allgemeinen eine derartige Fähigkeit besitzen, aber die diesbezüglichen Veröffentlichungen widersprechen einander [1]), so daß von verschiedenen Seiten die eiweißlösende Wirkung dieser Bakterien in Abrede gestellt wird. So schreibt unter anderem Duclaux in seinem „Traité de microbiologie". Tome II. 1899. p. 662: „Tout ce qu'on peut dire c'est que les microbes qui envahissent la matière azotée lui font tout de suite un milieu alcalin dans lequel ils la liquifient et la transforment. Ils doivent donc secreter des diastases analogues ou identiques à la trypsine."

1) Freudenreich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1898. p. 279. — Schirokich, M. J., Annales de l'Institut Pasteur. 1898. p. 400. — Chodat, R. und Hofman-Bang, N. O., Annales de l'Institut Pasteur. 1901. p. 36.

Der Mangel eines direkten Beweises in obengenanntem Sinne hat wohl Veranlassung dazu gegeben, daß verschiedene Untersucher, welche sich mit dem Studium der Käsereifung beschäftigen, die Wirksamkeit der Milchsäurebakterien bei derselben nicht anerkannten. Indem wir für heute die Frage unberührt lassen wollen, in wieweit die Hartkäsereifung verglichen werden kann mit dem bis jetzt bekannten Peptonisieren des Käsestoffes, möchten wir eine von uns isolierte Milchsäurebakterie beschreiben, welche die Eigenschaft besitzt, die Gelatine zu verflüssigen und die Kaseïne anzugreifen.

Ein Stück Export-Cheddar Cheese aus dem Staate New York, das zufällig in unsere Hände geriet, wurde bakteriologisch untersucht. Als Nährboden wählten wir unter anderem Molkengelatine[1]).



Verflüssigende Milchsäurebakterie. 1000 × Vergr.

Nach einigen Tagen entwickelten sich auf der Platte mit Oberflächenkultur verschiedene Kolonieen, welche immer tiefer in die Gelatine hineinsanken und am Ende von einer trichterförmigen Aushöhlung umgeben waren, welche vollständig mit verflüssigter Gelatine aufgefüllt war. Da die bisher bekannten, die Gelatine verflüssigenden Bakterien bald aus dem Käse verschwinden, weil sie der saueren Umgebung keinen Widerstand leisten können, kam diese Erscheinung uns mit Rücksicht auf das hohe Alter des Käses sehr eigentümlich vor. Es wurde also von dieser Bakterie eine Reinkultur angelegt und damit sterilisierte Milch geimpft. Da stellte sich heraus, daß dieser Mikroorganismus Säure bildet; die Verflüssigung der Gelatine findet also in einem sauren Medium statt.

Die Bakterie ist ein Diplococcus, welcher manchmal übergeht in einen Streptococcus mit meistens 4—5 Gliedern, aber bisweilen auch in längeren Schnüren vorkommt. Der Durchmesser jedes Coccus beträgt etwa 1 μ. Sie wächst sehr gut in Milch und auf Molkengelatine; auf Molkenagar kommt sie aber nicht zur Entwickelung. Die Tötungstemperatur bei einer viertelstündigen Erhitzung liegt zwischen 55 und 60° C. Bei dieser letzten Bestimmung kam eine 19-tägige Kultur in sterilisierter Milch zur Verwendung.

1) Die Molkengelatine wird hier in folgender Weise hergestellt: Frische Vollmilch von guter Qualität wird mit Lab geronnen. Der Bruch wird vorsichtig zerschnitten und die Molken abgeschenkt. In $^1/_2$ l Molken wird 10 Proz. Gelatine zugesetzt und etwa 10 Minuten im Dampftopf erhitzt; die Gelatine hat sich dann gelöst. Jetzt setzt man so viel Natronlauge hinzu, bis amphotere Reaktion eintritt. Die Flüssigkeit wird dann wiederum in den Dampftopf gestellt und während 20 Minuten auf 100° C erwärmt. Dann hat sich ein Absatz von Eiweißstoff, phosphorsauren Salzen u. s. w. gebildet und die Flüssigkeit kann filtriert werden. Das Filtrat ist in diesem Falle ganz klar und gibt bei nachfolgenden Erhitzungen kein Präzipitat. Mehr wie $^1/_2$ l zu gleicher Zeit in Verarbeitung zu nehmen, ist nicht geraten, weil hinsichtlich der Klarheit die Resultate schlecht werden.

Wenn die Bakterie auf Molkengelatine gebracht wird, entstehen, wie schon gesagt, nach 2 Tagen bei 22° C Kolonieen, welche allmählich in die Gelatine sinken und von einer trichterförmigen Aushöhlung umgeben sind von etwa $1^1/_2$ mm Durchmesser, ausgefüllt mit verflüssigter Gelatine. Die weitere Verflüssigung geht nur sehr langsam von statten; werden z. B. auf einer Platte Strichkulturen angelegt, so verflüssigt jeder Strich höchstens bis zu einer Breite von 3—4 mm. Gießt man zur Erzielung einer Tiefkultur ein geimpftes Kölbchen Molkengelatine aus in ein Probierröhrchen, so entstehen auch da die Kolonieen nach einigen Tagen bei 22° C. Die Verflüssigung findet hier nicht durch die ganze Masse zu gleicher Zeit statt, sondern fängt an der Oberfläche an und schreitet weiter nach unten, bis nach etwa 12 Tagen alle Gelatine verflüssigt ist. Hieraus geht hervor, daß die Enzymbildung unter dem Einfluß der Luft geschieht.

Milch, mit der Bakterie geimpft, zeigt die nachfolgenden Erscheinungen: Nach etwa 2 Tagen bei 22° C präzipitierten die Kaseïne als eine einheitliche Masse. Die überstehende Flüssigkeit ist klar, mit einer Färbung ins Braune und läßt sich bequem abfiltrieren. Das Filtrat reagiert sauer; so fanden wir in einer Kultur, welche 46 Tage alt war, 56 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure pro 100 ccm Filtrat und in einer 2 Tage alten Kultur 30 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure mit Rosolsäure als Indikator. Das Filtrat gibt sehr deutlich die Biuretreaktion [1]), hat weiter einen bitteren Geschmack, erinnert also an Pepton und enthielt verhältnismäßig viel Stickstoff. In einer 27 Tage alten Kultur fanden wir z. B. 24,2 ccm $^1/_{10}$ Normalstickstoff pro 10 ccm Filtrat, während die zur Impfung angewandte Milch 35,5 ccm $^1/_{10}$ Normalstickstoff pro 10 ccm enthielt. Für eine Kultur von 3 Tagen betrugen diese Zahlen entsprechend 17,4 und 32,5 ccm $^1/_{10}$ Normalstickstoff. Nach 4 Wochen ist also noch nicht aller Käsestoff löslich gemacht. Setzt man aber vorher Kreide in ausreichender Menge hinzu zur Bindung der gebildeten Säure, so verläuft die Peptonisierung weit rascher. Wahrscheinlich sondert die Bakterie nicht auf einmal eine große Menge, sondern allmählich kleine Portionen des pepsinartigen Enzyms ab, so daß durch eine Hemmung des Wachstums, z. B. durch die Säure, die Bildung des Enzyms nicht sein Maximum erreichen kann.

Zur weiteren Definierung der gebildeten Säure wurde ein 4 l-Kolben mit Milch gefüllt, 120 g Kreide hinzugefügt, sterilisiert und mit der Bakterie geimpft. Nach etwa 4 Tagen war die Milch geronnen, trotzdem die Flüssigkeit nur schwach sauer ist, zu niedrig, daß die Säure die einzige Ursache zur Gerinnung bilden würde. Deshalb wurde beschlossen, auch nach einem Labenzym zu suchen. Nachher löste sich wiederum die geronnene Masse. Nach etwa 2 Wochen Stehen bei 22° C wurde die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen, damit das Uebermaß der Kreide zurückblieb, und im Vacuum unter 50° C bis zur Sirupdicke eingedampft. So

1) Kaseïnpepton gibt mit Natronlauge und wenig Kupfersulfat eine mehr ins Rote spielende Färbung, während Fleischpepton dagegen eine violette Farbe damit zeigt.

blieb etwa $^1/_2$ l übrig. Nach Auskristallisierung des milchsauren Kalkes wurde diese abfiltriert, wieder in Wasser gelöst und mit einer äquivalenten Menge Oxalsäure versetzt. Der oxalsaure Kalk wurde abfiltriert und das Filtrat bis zur Sirupdicke im Vacuum eingedampft. Der Sirup wurde mit Aether ausgeschüttelt und der Aether verdampft. Es blieb eine sirupartige, stark saure Flüssigkeit zurück. Von dieser Säure wurde das Zinksalz hergestellt, dies bei 100° C getrocknet, damit es sein Kristallwasser verliere und nachher analysiert. Gefunden wurde 33,66 Proz. ZnO anstatt der berechneten 33,33 Proz., wenn man die Säure als Milchsäure betrachtet. Hieraus geht hervor, daß wir hier tatsächlich mit Milchsäure zu tun hatten.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Bakterie ein Labenzym absondert, wie wir meinten, unterwarfen wir die von dem auskristallisierten Calciumlaktat filtrierte Flüssigkeit der Dialyse. Nachdem so lange dialysiert worden war, unter Zusatz von Chloroform, daß kein Milchzucker mehr da war (die Umsetzung von Milchzucker in Milchsäure fand nach etwa 2 Wochen nicht vollständig statt), wurde der Inhalt des Dialysators bei 50° im Vacuum eingedampft. Einige Kubikcentimeter dieser neutral reagierenden Flüssigkeit genügten, um 100 ccm Milch bei 40° C in wenigen Minuten dick zu legen, während eine gleiche Menge, welche vorher auf 100° C erhitzt worden war, diese Eigenschaft verloren hatte, so daß hier bestimmt ein Ferment seine Tätigkeit entfaltete. Die Koagulierung der sterilisierten Milch resultiert also aus der Zusammenwirkung des Labenzyms und der Milchsäure.

Aus diesen Beobachtungen geht also hervor, daß diese Bakterie

1) in ziemlich starker Menge Milchsäure abscheidet, also ein Milchsäureferment ist;

2) ein pepsinartiges Enzym und

3) ein labartiges Enzym bildet.

In wiefern diese Bakterie als solche oder durch ihre Enzyme eine Rolle spielt bei der Reifung der Cheddar Cheese, können wir nicht hier entscheiden, obgleich es uns scheint, daß dieselbe, wenn sie immer darin vorkommt, die Hauptsache ist.

The action of various classes of bacteria on casein as shown by milk-agar plates.

[From the Bacteriological Laboratories of the University of Wisconsin, Madison, Wis.]

By **E. G. Hastings.**

With 1 Plate.

In a paper read before the Society of American Bacteriologists in December 1902, an abstract of which was published in this Journal [1]), the advantages of milk-agar as a means of determining the production of proteolytic enzymes by micro-organisms were pointed

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. X. p. 384.

out. It was later brought to my notice that a like medium had been suggested aud used by Eijkman[1]), for the same purpose. Subsequently v. Freudenreich[2]) also made use of the same and gave a note on its preparation.

A large number of organisms had been grown on this medium and it seemed that it was well fitted for the purpose of demonstrating the production of proteolytic enzymes by micro-organisms. Among the organisms tested were several strains of B. coli communis, all of which had been maintained for considerable periods as stock cultures. With one exception, however, these produced no visible change in the medium. One culture produced a very faint clearing in close proximity to the line of growth. This, however, was so slight that it was scarcely apparent. B. coli communis was taken as a representative of the organisms able to ferment lactose with the production of acid, and inasmuch as these cultures produced no change which could in any way be mistaken for changes caused by proteolysis, it was thought that no acid-producing organism would cause such changes in the medium. On taking up the subject later, it was found that freshly isolated cultures of lactic acid organisms produced marked changes which might be mistaken for those caused by proteolytic enzymes. Petri dishes cultures were inoculated by making a single streak across the surface of the medium[3]). Soon after growth became visible the original opacity due to the casein completely disappeared in a zone surrounding the line of inoculation, and as growth continued this zone became wider. Soon, however, the culture medium began to appear opaque in the immediate proximity to the line of growth. This opacity continued to increase until it exceeded that of the original medium. The Petri dish culture marked "C" shows the changes produced by a typical lactic acid organism after 72 hours incubation at 20° C. This organism caused no liquefaction of gelatine.

It is evident from the appearance of the milk-agar plate that soluble compounds of the casein have been formed under the influence of the acid-producing organism. But how is this phenomenon to be explained? Quite recently the discovery was made by Van Slyke[4]) and Hart that small amounts of acid in contact with casein result in the formation of an unsaturated or mono-acid salt, insoluble in water, sparingly soluble in dilute solutions of calcium lactate and calcium carbonate, but soluble in 50% hot alcohol and in dilute solutions of sodium chloride. With increased amounts of acid a saturated salt is formed, a diacid salt, casein dilactate, insoluble in water, dilute salt solutions and 50% hot alcohol. These compounds are formed not only with lactic acid but with acetic, hydrochloric and sulphuric acids. The transparent zone in "C" represents that portion occupied by the mono-acid salt of casein

1) Centralbl. f. Bakt. u. Par. Abt. I. Bd. XXIX. p. 841.
2) Revue générale du lait. T. II. p. 231.
3) The medium is prepared by adding to ordinary nutrient agar, which has been melted and allowed to cool to 50° C. 10% of sterile skim milk. If the milk is added to the agar while hot, the casein will be precipitated in coarse floculent masses.
4) Bull. 214 N. Y. Expt. Station.

which is dissolved in the dilute saline solution of the culture medium (1,5 %, agar, 10 %, skim milk, 0,5 NaCl). The more opaque zone surrounding the line of growth is due to the formation of the insoluble diacid salt. The increased opacity is probably due to the precipitaion of the di-acid salt in finer form that the original casein.

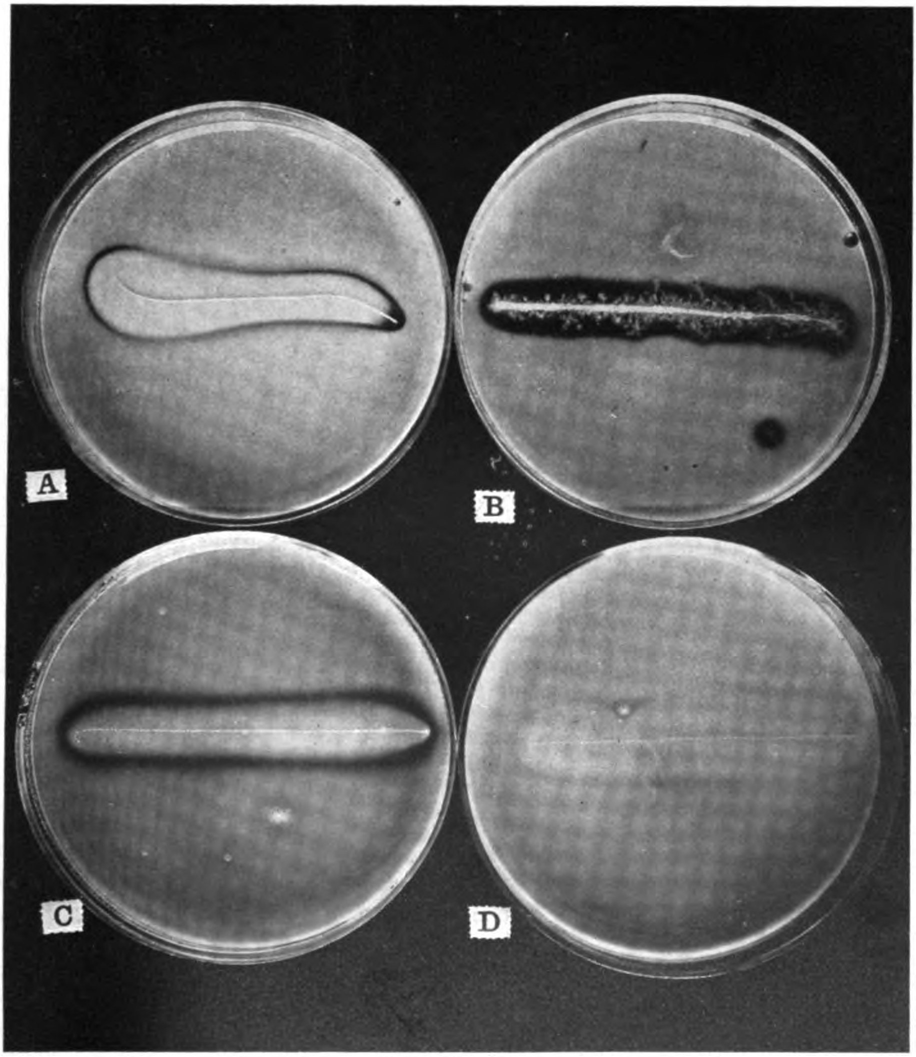
Similiar changes can be brought about by the use of acids as is shown in milk-agar plate "A". On the same medium as in "C" was placed a thread which had been dipped in strong lactic acid. The photograph represents the appearance of the plate one hour after the thread was placed on the surface. The same changes are to be noted as in "C" except that the more opaque zone is wider as would be expected on account of the larger amount of acid. In a medium containing no salts which would exert a solvent effect on this mono-acid compound of casein an entirely different appearance would be expected. Petri dish "D" shows a lactic acid culture grown on the same medium as in "C" but to which no salt was added. In this case the mono-acid salt is not differentiated from the di-acid salt because the lack of sodium chloride prevents the mono-salt from going into solution.

Van Slyke and Hart have pointed out the relation of these changes to the breaking down of the paracasein in the ripening of cheese and this method affords a ready means of demonstrating in a graphical manner this reaction. Numerous investigations especially those of v. Freudenreich, have shown that in the absence of lactic acid organisms a normal ripening of the firm types of cheese (cheddar and Swiss) does not occur. Van Slyke and Hart have shown that the first step in the ripening of cheese consists in the formation of an unsaturated acid salt between the paracasein and the acid produced by the lactic acid bacteria; and to the formation of this compound are due the changes in appearance, texture and peasticity of the cheese curd during the process of making and to the breaking down of the paracasein monolactate under the action of the various ferments contained in the cheese is due the increase in soluble nitrogenous compounds.

The culture plate marked "B" illustrates the changes produced by a liquefying organism, B. anthracis, after 24 hours incubation at 37° C. In this the clear zone is produced by the action on the casein of the proteolytic enzymes formed by the bacteria. In case a micro-organism forms only a small quantity of acid there may not be sufficient amount to precipitate the di-acid salt. In such a case the zone surrounding the line of growth would remain clear thus rendered confusion liable with a true digesting or liquefying organism.

The changes produced by the two classes of bacteria are, however, easily differentiated by the use of the dilute acids. If a culture showing a clear zone about the line of inoculation is flooded with dilute acid, mineral or organic, the opacity will be at once restored, if the changes have been caused by the action of the acid produced by the organisms, on account of the formation of the insoluble casein dilactate, while if the clearing is produced by the proteolytic action no change will be noted on treatment with acids.

Hastings, The action of various classes of bacteria on casein as shown by milk-agar plates.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Additional Work upon the Associative Action of Bacteria in the Souring of Milk.

By **Charles E. Marshall**, Ph. D.,

Professor of Bacteriology and Hygiene, Agricultural College, Mich., U. S. A.

In the first article of these studies published in the Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. No. 24 u. 25 and as Special Bulletin. No. 23 from Michigan State Agricultural College, there was demonstrated conclusively by repeated experiments the influence of a distinct species of micro-organism, diametrically opposed in its nature and functions to lactic acid bacteria, upon the souring of milk. In this article, as in the previous discussion, the micro-organisms will be designated in the same manner — that micro-organism which peptonizes the casein, after a time renders the milk quite alkaline, and is employed for association with the lactic acid bacterium has been and still continues to be designated by B, and the lactic acid bacterium by A.

Since recording the first work some fifty tests have been independently made by as many individuals, all of which tend to strengthen the writer's position in this matter. Farther than this, other micro-organisms which may be classed in general with B have been met which are capable of producing similar results when associated with A in milk, and also others which do not hasten the souring of milk or stimulate the activity of the lactic acid bacteria, but on the other hand retard or check the souring process. Very dissimilar processes are met, each individually characteristic, yet all deviate in one way and another from the simple process of milk souring in a pure milk culture of lactic acid bacteria designated as A. In this connection therefore, two groups present themselves — those which hasten the souring of milk and those which retard. At this stage of our work it cannot be stated which is the predominating group. As far as the investigations go, that which hastens the process is in the ascendency and the amount of influence exerted is widely varying.

The immediate cause for this stimulating influence upon the lactic acid bacteria through the development of a species of micro-organism, so different in its effect upon milk and in its nature, calls for consideration. The fact that micro-organism B usually dies out within fifty hours when associated with micro-organism A in milk, indicated that the influencing factor must be the outcome of the first hours of development. Micro-organism B predominates at first but is superseded by A, hence micro-organism B probably produces this factor. If this factor or substance be stable and remain unchanged by heat, it follows that the substance would not yield to sterilization and could be used independent of the germs producing it. In accordance with this view, micro-organism B was cultivated in sterile litmus milk for forty-eight hours at 23° C, when it became apparent that a change had begun in the milk. The cul-

tures were then sterilized in steam for three consecutive days, at the end of which time bouillon culture tests made from the milk established the fact of sterility. Sterile litmus milk flasks, from the same lot of milk used for the above cultures of micro-organism B, and containing the same amount of milk in each, were inoculated with micro-organism A in identical amounts as were inoculated into the set of sterilized flask-cultures in milk as described. These two sets of flask-cultures, one set in which micro-organism B had grown for forty-eight hours then sterilized andinoculated with micro-organism A, the other set simply inoculated with micro-organism A, were placed at 23° C and observed from time to time. It was found that micro-organism B had in some manner produced a substance or condition which remained unchanged through sterilization and was apparently as active in stimulating the lactic acid bacteria as the living micro-organisms themselves. To further test this product of micro-organism B, some whey-agar was made out of a milk-culture of B which had grown for forty-eight hours. The casein was precipitated by rennet, the whey was clarified and made into agar. When this agar was planted with micro-organism A and the culture compared with the growth upon whey-agar made from fresh milk, in twenty-four hours time at $37^1/_2$ ° C, there was so much difference in the prolificacy of growth manifested between the two whey-agars in favor of the agar made from the milk-culture of micro-organism B that it was plainly evident the products of micro-organism B found their way into the agar. The stability of these products through repeated heating is only another instance of what has been repeatedly demonstrated in case of many other products of bacteria.

In an effort to secure definite data upon the influence of the products resulting from the growth of micro-organism B in milk, a quantitative determination was resorted to. Eight flasks, 500 c. cm. in capacity, were employed as containers. Into each was placed 100 c.cm. of milk of the same lot, to which litmus had been added. These were sterilized at 100° C for three consecutive days. For the purpose of reference we shall designate these flasks as 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8. When sterilization was completed, flasks 5, 6, 7 and 8 were inoculated each with a definite and the same quantity of micro-organism B. These flasks were placed at 23° C for forty-eight hours, at the end of which time visible milk changes, characteristic of micro-organism B, were noted. They were then sterilized again at 100° C for three consecutive days. Bouillon tubes inoculated from these flasks gave no signs of growth after several days. At this stage, therefore, we have four flasks 1, 2, 3 and 4 in which no special germ had been permitted to grow, and four flasks 5, 6, 7 and 8 in which micro-organism B had been allowed to develop for forty-eight hours at 23° C.

Each of these flasks 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 was inoculated synchronously with $^1/_{2000}$ c.cm. of a fresh milk-culture of micro-organism A. An estimated determination made the number of organisms 49 800 for each flask. In handling this amount of culture, to obtain accuracy and uniformity, high dilutions in physiological

salt solutions were employed. Our work was accurate, for the eight plates employed scarcely deviated over one or two colonies from the average. The further results of our work also bear us out in the correctness of our manipulations.

All the flasks after inoculation as above were placed at a temperature of 23° C. Observations were made every twenty-four hours.

Observations at the end of twenty-four hours.

The litmus in the milk in flasks 1, 2, 3 and 4 was slightly reddened only. There was no apparent change in milk. In flasks 5, 6, 7 and 8 the litmus was wholly reduced except a very thin layer on the immediate surface. The milk was a firm lopper, with whey separated.

Observations at the end of forty-eight hours.

Litmus in milk in flasks 1, 2, 3 and 4 redder than 24 hours previous. Milk still unchanged to naked eye. Flask cultures 5, 6, 7 and 8 remained as the day previous. Growth was checked and oxygen had permeated milk to half its depth, reddening the litmus.

Observations at the end of seventy-two hours.

Milk in flasks 1, 2, 3 and 4 was beginning to lopper. A thin layer of loppered milk had formed on bottom of flask but surface milk was still fluid. Litmus almost wholly reduced. Flask cultures 5, 6, 7 and 8 remained same as previously; the litmus had become red throughout.

Upon reviewing the above observations, it should be emphasized that flasks 1, 2, 3 and 4 developed together as nearly identically as it is possible: a study of the acidities will also establish this; hence it follows that these four flasks may be considered as demonstrating the unity of action. Flasks 5, 6, 7 and 8 may also be treated in the same manner. The difference in time of loppering between these two sets is about forty-eight hours. Flasks 5, 6, 7 and 8 were thoroughly loppered and the whey separated in twenty-four hours, while flasks 1, 2, 3 and 4 did not begin to lopper till the 72'' hour. Flasks 1, 2, 3 and 4 were wholly free from and uninfluenced by micro-organism B, while flasks 5, 6, 7 and 8 had in reality been cultures of forty-eight hours standing of this micro-organism. Since the germs had been killed by sterilization, we may conclude that the products resulting from their growth furnished a more favorable medium for the development of the lactic acid bacteria, causing the more rapid souring of the milk.

An investigation of acidity in these flask cultures at intervals of twenty-four hours will also offer conclusive proof and a more intimate knowledge of the changes taking place. At the time of inoculation of these milk-flasks with micro-organism A, flasks 1, 2, 3 and 4 had an acidity to phenol-phthalein of 22°, flasks 5, 6, 7 and 8 of 26° C. This difference of 4° may be attributed to the action of the products of germ B upon the indicator phenol-phthalein. This has been noted before. The difference is apparent, therefore, and not real. Litmus remained blue and becomes more densely blue as micro-organism B continues in its growth in milk. Moreover

these four degrees will have little effect upon the striking results obtained.

Flask-cultures	0 hours old	24 hours old	48 hours old	72 hours old	96 hours old
1	22°	30°	48°	62°	66°
2	22°	30°	46°	60°	66°
3	22°	30°	48°	62°	64°
4	22°	30°	48°	62°	66°
5	26°	72°	108°	112°	112°
6	26°	72°	106°	112°	110°
7	26°	70°	108°	112°	110°
8	26°	70°	108°	110°	110°

The slight differences in the readings in each set at the same hour are easily attributable to experimental error; however the wide difference in acidities existing between the two sets, flasks 1, 2, 3 and 4 on the one hand and flasks 5, 6, 7 and 8 on the other, clearly indicate that some influence is at work which has the power of increasing the acidity in flasks 5, 6, 7 and 8 over flasks 1, 2, 3 and 4. All are identical in their treatment and conditions, excepting the products which are under discussion. These products alone can account for these results. Heretofore I have called attention to the uniformity in the development of the cultures. This is very noticeable in the study of acidities and such uniformity lends confirmation to the work.

But one feature more remains in this discussion to bring it up and make it harmonious with my former article for purposes of comparison and this is the consideration of the number of bacteria developed in flasks 1, 2, 3 and 4 of one set, and also in flasks 5, 6, 7 and 8 of the other. I have already stated that at the beginning, each flask contained 49,800 micro-organisms A. The time for ascertaining the necessary comparison in the number of germs was determined by the loppering of the milk in flasks 5, 6, 7 and 8; at this point a comparison, forsooth, is far more desirable than at any other point. A careful estimate reveals 12 920 000 micro-organisms per c.cm. in flasks 1, 2, 3 and 4; and 517 920 000 micro-organisms per c.cm. in flasks 5, 6, 7 and 8. This estimate was made at the end of the first 24 hours after the inoculation of the milk with micro-organisms A. The ratio existing may be stated as follows — the number of micro-organism A in flasks 1, 2, 3 and 4 without the influence of micro-organisms B is to the number of micro-organisms A in flasks 5, 6, 7 and 8 growing under the influence of the products of micro-organism B as 37 : 156. It is therefore conclusive that the lactic acid bacterium grows more rapidly in the presence of the products of micro-organism B than when it is not so associated and that milk sours more rapidly when either the living form of micro-organism B or its products are present. This is due to the influence exerted by micro-organism B directly or indirectly upon the development of micro-organism A. The evidence is three-fold: 1st. It is manifest from the apparent changes in the milk on mere observation. 2nd. It is manifest by

a study of the development of acid in the different flasks; 3rd. It is manifest by the number of germs actually found to be present in the different cultures.

In our former article we succeeded in establishing that micro-organism B influences micro-organism A in the souring of milk, in this article we have brought this influence down to the products of micro-organism B.

This work had a direct bearing upon the pure milk supply because, as soon as these micro-organisms possessing the nature of micro-organism B are allowed to grow in milk during the first hours after milking, there is always that possibility of products forming which may be obnoxious and which may hasten the souring of the milk. This work also has its bearing upon the use of starters, because we are able to show, and shall show in a future article, that the products of micro-organism B are stable and cannot be supplanted by any starter. Butter made from cream so treated will show a diminution of the products of culture B in proportion to the amount of acid starter employed in covering up these products. The persistency of the products of micro-organism B also indicates that there is but one way to secure absolute results in milk-products; this consists in establishing as cleanly conditions as possible and at the same time cooling the milk down to that degree which will retard the development of these obnoxious micro-organisms. Other results are becoming more apparent as we proceed with this work but at this time we feel it desirable to limit ourselves to these statements.

April 18th, 1904.

Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen.

Von **L. A. Rogers,**

Bio-Chemic Laboratory, Bureau of Animal Industry, U. S. Dept. Agriculture.

(Schluß.)

Die Kraft, Fett zu spalten ist nicht konstant, sondern variiert mit einem unbekannten Faktor, wahrscheinlich einer kleinen Differenz in der Komposition des Nährmediums, durch welche die Ernährung der Zelle beeinflußt wird.

Diese Organismen können sich eine Zeit lang in Butter vermehren, ohne eine bemerkbare Veränderung im Säuregrade zu bewirken. In Gemischen von Butterfett und Milchkulturen wird die Säurezahl nicht immer erhöht und Inokulationsversuche mit Sterilrahmbutter geben nicht immer positive Resultate.

In Versuchen dieser Art wurden 3 oder 4 l frischen Rahms [1]) 15 Minuten lang einer Temperatur von 60° C ausgesetzt und dann

1) Der frische Rahm wurde für diesen Zweck von der Abteilung für Milchwirtschaft der landwirtschaftlichen Versuchsstation des Staates Maryland geliefert, wofür hierdurch gedankt wird.

in zwei Portionen verteilt, von denen eine jede einen Zusatz von 200 ccm einer 24 Stunden alten und mit steriler Milch als Nährmedium versehenen Reinkultur von Milchsäurebacillen erhielt 200 ccm einer 48 Stunden alten, in steriler Milch gezogenen Kultur der Torula-Hefe T. Am nächsten Tage wurden beide Portionen durch Schütteln in Flaschen gebuttert und mit dem Produkt wurde sehr sorgfältig verfahren. Die Butter wurde in dem Verhältnisse von 1:48 gesalzen. Beide Portionen wurden in einem Wasserbade bei einer Wärme von 40—45° C geschmolzen und dann in kleine Flaschen, die mit Paraffin verkittet wurden, übertragen. Nachdem die Masse in den Flaschen durch Schütteln in kaltem Wasser homogen gemacht worden war, wurden die Proben bei 23° C aufbewahrt.

Tabelle VI.

Verhältnis der Hefenzahl und der Säure in der Versuchsbutter.

Proben	Mit Hefe T geimpft		Kontrolle	
	Hefenzahl per g	Säurezahl	Hefenzahl per g	Säurezahl
Sogleich	321,000	0,29	—	0,20
Nach 39 Tagen	sehr wenige	10,43	—	0,74
„ 42 „	10.300	9,98	—	0,69
„ 58 „	28,500	14,13	—	0,78

In diesen Versuchen trat eine sehr bemerkenswerte Steigerung der Säurezahl in der geimpften Butter auf. In der Kontrolle erhöhte sich der Säuregrad, bis er die normale Säurezahl frischer Butter erreichte, und blieb dann konstant.

Man kann diese Organismen als den Typus einer Art betrachten, die sich unter gewissen Verhältnissen in verpackter Butter entwickeln und durch die Sekretion von fettspaltenden Enzymen unerwünschte Veränderungen in der Butter verursachen kann. Die Hefen und die verwandten Species der Torula-, Oidium- und Monilia-Arten sind weit verbreitet und brauchen nur gewisse günstige Verhältnisse, um sich schnell zu vermehren.

Die anaërobischen Formen, wie die hier besprochene Torula-Hefe, würden besonders günstige Bedingungen in den streng sauren Säureweckern, die gewöhnlich in Butterfabriken benutzt werden, finden. Die Hefen werden im allgemeinen durch ein saures Nährmedium begünstigt und ihre Entwickelung würde nicht, wie es bei den meisten Bakterien der Fall ist, durch die von Zuckerfermenten hervorgerufene Bildung von Milchsäure gehemmt werden. Sie sind sogar gegen Milchsäure widerstandsfähiger als die Milchsäurefermente selbst und sie würden sich demnach in der Milch weiter entwickeln, nachdem die letzteren durch ihren eigenen Stoffwechsel abgestorben sind. Andererseits ist aber diese Torula-Hefe einigen Fettsäuren, wie z. B. der Buttersäure, gegenüber sehr empfindlich, so daß ihre Entwickelung in Butter durch die Anwesenheit solcher freien Säuren zweifellos gehemmt werden würde.

Die geringere fettspaltende Fähigkeit dieses Organismus und sein verhältnismäßig seltenes Vorkommen in verpackter Butter führt zu der Annahme, daß er kaum als der Hauptfaktor oder als

die einzige Ursache der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Erhöhung des Säuregrades betrachtet werden kann.

Enzyme aus der Milch. Mafan und Gilett (10) haben das Vorkommen eines lipolytischen Enzyms in der Milch bewiesen. Spolverini (11) hat die von Mafan und Gilett erhaltenen Resultate bestätigt und noch dazu gezeigt, daß die fettspaltende Aktivität in der Kuhmilch viel schwächer als in Frauenmilch oder in der Milch gewisser Tiere ist.

Um den Einfluß dieses Enzyms auf Butterfett zu beobachten, wurde eine Quantität frischer Milch, die von einer gesunden Kuh der Versuchstation des Bureaus für Viehindustrie, einer Abteilung des Ackerbaudepartements, herrührte, in 2 Portionen geteilt, von denen die eine 20 Minuten lang in einer Wärme von 95—99° C gehalten wurde, worauf dann beide einen Zusatz von Formaldehyd im Verhältnisse von 1 : 1250 erhielten. Eine den Portionen im Volumen gleiche Quantität Butterfett, 30 Minuten lang bei einer Temperatur von 95—99° C erhitzt, wurde durch Schütteln in kaltem Wasser mit jeder Milchprobe vermischt und beide Flaschen dann bei einer Wärme von 30° C im Brütschranke aufbewahrt wurden. Die nach 13 und 19 Tagen bereiteten Gelatineplatten zeigten, daß beide Flaschen fast steril waren. Die Resultate der Säurezahlbestimmungen sind in Tabelle VII angegeben:

Tabelle VII.
Durch Milchenzym verursachte Erhöhung der Säurezahl.

Milchproben	Säurezahl	
	mit Erhitzung	ohne Erhitzung
Sogleich	0,47	0,47
Nach 13 Tagen	0,45	0,96
„ 19 „	0,41	1,35

Die Säurezahl der erhitzten Probe blieb unverändert, während die nicht erhitzte Probe eine entschiedene Veränderung in dieser Hinsicht zeigte. Das vorliegende Resultat konnte nur durch die Tätigkeit eines mit der Milch ausgeschiedenem Enzyms bewirkt werden und dieses Enzym würde zweifellos in die Butter hinübergetragen werden und würde, wenn auch nur in kleinen Mengen vorhanden, im stande sein, die schon beschriebene, langsam vor sich gehende Zersetzung in verpackter Butter hervorzubringen.

Um den direkten Einfluß dieses Enzyms auf die Butter zu bestimmen, wurde eine kleine Quantität Butter im Laboratorium unter Bedingungen bereitet, die die etwaige Tätigkeit von Mikroorganismen ausschlossen. Ungefähr 3 l Rahm, aus des morgens gemolkener Milch entnommen, wurde gleich nach dem Melken und dem Entrahmen ins Laboratorium getragen und das Enzym in der einen Hälfte durch 15 Minuten lange Erhitzung bei 60° C zerstört. Beide Portionen wurden dann bis zu ungefähr 12° C abgekühlt und durch Schütteln in einer großen, mit distilliertem Wasser ausgewaschenen und gründlich drainierten Flasche gebuttert. Die gewonnene Butter wurde in einem Wasserbade bei einer Wärme von 45° C geschmolzen und dann in dem Verhält-

nisse von 1 : 24 gesalzen. Durch Zusatz von Formaldehyd enthielt die Butter annähernd 1 Teil dieses Antiseptikums in 1500 Teilen Wasser. Diese Butter wurde in kleinen, versiegelten Flaschen bei 23 ° C aufbewahrt. Die Säurezahl wurde gleich nach der Bereitung und dann wieder nach 48 Tagen bestimmt.

Tabelle VIII.
Durch Milchenzym bewirkte Vermehrung der Säure in Butter.

Proben	Säurezahl	
	ohne Erhitzung	mit Erhitzung
Sogleich	0,58	0,44
Nach 48 Tagen	1,76	0,33
„ 92 „	3,07	0,48

Nur eine kleine Erhöhung der Säurezahl fand in der nicht erhitzten Probe statt, aber dennoch genügend, um eine entschiedene lipolytische Tätigkeit darzustellen, die im stande ist, im Verlaufe der Zeit den in gewöhnlicher, in Büchsen verpackter Butter vorgefundenen Säuregrad herbeizuführen. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß sich in dem kurzen Zeitintervalle von einigen Stunden zwischen dem Melken der Milch und dem Zusatze von Formaldehyd zur Butter ein genügendes Quantum lipolytischer Enzyme entwickelt hat, um diese Veränderung zu verursachen. Es scheint sehr annehmbar zu sein, daß das tätige Enzym in der nicht erhitzten Portion mit der Milch ausgeschieden und aus derselben in die Butter hinübergeführt worden ist.

Aus nicht pasteurisiertem Rahm bereitete und unter Abschluß der Luft aufbewahrte Butter würde ohne die Mitwirkung von fettspaltenden Organismen eine Erhöhung des Säuregrades erleiden und im Laufe der Zeit einen widerlichen, „fischigen“, diese Zersetzung charakterisierenden Geschmack erhalten. Sollten neben diesem Enzym noch anaërobische, fettspaltende Organismen, von denen die Torula-Hefe T als Typus betrachtet werden kann, gegenwärtig sein, so würde wahrscheinlich die Zersetzung verschnellert und möglicherweise die Restprodukte mehr oder weniger verändert werden und die Butter eine entsprechende Veränderung im Geschmack erleiden. Die Pasteurisation des Rahmes ohne späteren Schutz gegen Keime von fettspaltenden Organismen würde das Produkt nicht gegen Zersetzung sichern.

Es kommt öfters vor, daß sich bei in großen, hölzernen Gefäßen verpackter Butter ein mehr oder weniger entschiedener „fischiger“ Geschmack, wahrscheinlich identisch mit dem „fischigen“ Geschmacke der in Blechbüchsen konservierten Butter, entwickelt. Man behauptet, daß dieses hauptsächlich der Fall ist, wenn Butter eine Zeit lang bei sehr niedriger Temperatur aufbewahrt worden ist und nachher einem höheren Wärmegrad ausgesetzt wird. Die Bedingungen in großen, festen Butterpacketen sind denen der in Büchsen verpackten Butter sehr ähnlich und es ist höchst wahrscheinlich, daß es durch Untersuchungen festgestellt werden wird, daß die Faktoren, die diese Veränderungen erwirken, identisch sind.

Schlußbetrachtung.

1) Hermetisch in Blechbüchsen verpackte Butter entwickelt im Laufe der Zeit einen verhältnismäßig niedrigen Säuregrad und einen unangenehmen, „fischigen“ Geschmack.

2) Durch Erhitzen sterilisierte Butter bleibt unter gleichen Bedingungen unverändert.

3) Bakteriologische Untersuchungen alter, in Büchsen konservierter Butter zeigen, daß sich nur noch die widerstandsfähigsten Bakterienarten vorfinden.

4) Untersuchungen von frisch in Büchsen verpackter Butter ließen nicht irgend welche Arten von butterfettzersetzenden Bakterien feststellen. Eine schwache lipolytische Tätigkeit besitzende Torula-Hefen wurden im allgemeinen gefunden, waren aber nicht sehr zahlreich. Die Zahl der Bakterien sowie der Hefen verminderte sich schnell.

5) Die Säurezahl wuchs langsam, aber ununterbrochen, nachdem die Bakterien fast alle und die Hefen ganz verschwunden waren.

6) Erhitzte Portionen von in Büchsen verpackter Butter blieben unverändert, während nicht erhitzte Portionen derselben Butter mit Antiseptikum präserviert, ihren Säuregrad erhöhten und dadurch die wahrscheinliche Tätigkeit eines lipolytischen Enzyms zeigten.

7) Die Torula-Hefe T, die als ein Typus der in Butter vorkommenden, fakultativ anaërobischen Organismen angesehen werden kann, scheidet ein lipolytisches Enzym aus.

8) Die Säurezahl der aus erhitztem Rahm gewonnenen und mit diesem Organismus geimpften Butter erhöhte sich bemerkenswert, während die nicht geimpfte Kontrolle unverändert blieb.

9) Das Enzym, dessen Vorkommen in Kuhmilch durch Mafan und Gilett bestätigt worden ist, rief eine entschiedene Erhöhung des Säuregrades im Butterfett hervor.

10) Aus erhitztem Rahm bereitete und mit einem Antiseptikum präservierte Butter blieb unverändert, während die Butter aus einer nicht erhitzten Portion desselben Rahmes, in der die Tätigkeit von Organismen durch einen Zusatz von Formaldehyd aufgehoben worden war, ihre Säurezahl entschieden erhöhte.

11) Die Resultate dieser Untersuchungen deuten auf die Folgerung hin, daß die gewöhnlich vorkommenden oder zuerst stattfindenden Veränderungen der in Büchsen verpackten Butter, durch welche dieselbe ihren guten, frischen Geschmack verliert und dem Geschmackssinne mehr oder weniger unangenehm wird; durch einen Säurefreisetzungsprozeß, der, wenn nicht ganz, doch meistenteils von der Tätigkeit eines mit der Milch aus dem Euter der Kuh ausgeschiedenen oder, wie es wenigstens in manchen Fällen vorkommt, in der Butter selbst durch die Aktivität gewisser Mikroorganismen produzierten Enzyms verursacht, hervorgerufen wird.

12) Auch scheint es immerhin annehmbar, daß auch diese Faktoren — die lipolytischen Enzyme der Milch gemeinschaftlich tätig mit den Hefen und den von ihnen produzierten Enzymen — für den sogenannten „fischigen“ Geschmack, der in großen, nicht dicht verschlossenen Gefäßen verpackten Butter verantwortlich sind, aber diese Annahme bedarf noch eines Beweises.

Literatur.

1) Berthelot, Sur les alterations qu'éprouvent les corps gras neutres au contact de l'atmosphère. (Journ. de pharm. et chim. Paris. 3. Sér. T. XXVII. 1855. p. 99.))
2) Browne, The chemistry of butter-fat. (Journ. Am. Chem. Soc. Vol. XXI. 1899. p. 975.)
3) Ritsert, Untersuchungen über das Ranzigwerden der Fette. Inaug.-Diss. Bern 1890.
4) Jensen, Studien über das Ranzigwerden der Butter. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. No. 1—13.)
5) Laxa, Ueber die Spaltung des Butterfettes durch Mikroorganismen. (Arch. f. Hyg. München u. Berlin 1901—1902. Bd. XLI. 1901. Heft 2. p. 119.)
6) Schreiber, Fettzersetzung durch Mikroorganismen. (Arch. f. Hyg. München u. Berlin 1901—1902. Bd. XLI. 1902. Heft 4. p. 328.)
7) König, Spieckermann u. Bremer, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. I. Die fettverzehrenden Kleinwesen. (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. IV. 1902. p. 721.)
8) Jörgensen, Microorganisms and Fermentation. 1900. (Macmillian & Co.) p. 237.
9) Kastle and Loevenhart, Concerning lipase, the fat-splitting enzyme and the reversibility of its action. (Am. chem. Journ. Vol. 24. 1900. p. 508.)
10) Mafan u. Gillet. (Das Original habe ich nicht finden können. Einen kurzen Auszug siehe Spolverinis Artikel.)
11) Spolverini, Sur les ferments solubles du lait. (Arch. de méd. enf. Paris. T. IV. 1901. p. 705.)

Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Vom Assistenten Dr. **Max Düggeli.**

In einer Mitteilung über „die Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen“ 1) hat sich Prof. Dr. R. Burri dahin geäußert, „daß das Bild der Bakterienflora einer Pflanze, wie es sich nach Zahl und Art mittels der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden feststellen läßt, nicht die Summe der durch Luftströmungen, Insekten, Düngung oder sonstwelche Wege auf die Pflanzen gelangten Bakterien darstellt, sondern der Hauptsache nach das Ergebnis einer während des Wachstums der Pflanze auf der Oberfläche derselben stattgefundenen lebhaften Bakterienentwickelung ist“.

Begründet wurde dieser Satz vorläufig dadurch, daß einerseits die großen Keimzahlen von frischem grünem Pflanzenmaterial (Maximum 201600000 Keime auf 1 g Rotklee) nicht durch bloßes Absetzen aus der Luft erklärt werden können und daß andererseits die Zusammensetzung der auf den Pflanzen vorkommenden Bakterienflora eine von der gewöhnlichen Luftflora durchaus verschiedene ist.

Der strenge Beweis für eine auf der Oberfläche der lebenden Pflanze stattfindende Bakterienvermehrung kann, wie schon der ge-

1) Centralbl. f. Bakt. u. Par. Abt. II. Bd. X. 1903. No. 24/25.

nannte Autor hervorgehoben hat, nur durch direkte bakteoriolgische Untersuchung von Keimpflanzen unter Ausschluß der in der freien Natur wirksamen Verunreinigungsquellen erbracht werden. Die Ausführung diesbezüglicher Versuche liegt dem Hauptteil der vorliegenden Arbeit zu Grunde. Bevor wir auf dieselbe eintreten, möchten wir indessen eine Reihe von Keimzahlbestimmungen mitteilen, die in Anlehnung an die von R. Burri (l. c.) publizierten bei etwas abgeänderter Arbeitsmethode ausgeführt worden sind und an sich eine Erweiterung und Vermehrung jenes Materials bedeuten. Die Prüfung auf die Zahl der im Gramm grüner Pflanzensubstanz vorkommenden Bakteriensporen glaubten wir vernachlässigen zu dürfen, dafür aber die Art der auf den oberirdischen Pflanzenteilen vorkommenden Bakterien zu berücksichtigen. Die Methode, durch welche die in untenstehender Tabelle zusammengestellten Resultate gewonnen wurden, bestand darin, daß die gesund aussehende Pflanzensubstanz im Freien unter möglichster Verhütung jeder Verunreinigung in sterilisierte Gläschen mit Watteverschluß verpackt, tunlichst bald im Laboratorium zur Verarbeitung gelangte. 1 g Material wurde in sterilisiertem Tiegel mit 10 ccm keimfreiem Wasser zerrieben, verschiedene Verdünnungen hergestellt und entsprechende Plattenkulturen mit gewöhnlicher, schwach alkalischer (auf Curcuma eingestellter) Gelatine gegossen. Wir zogen vor, die Pflanzensubstanz nicht nur mit Wasser tüchtig zu schütteln, sondern direkt zu zerreiben, da es nicht ausgeschlossen schien, daß ein Teil der Keime sehr gut an der Pflanzenoberfläche (namentlich in Vertiefungen) haftend, vom Wasser nicht abgespült würde und es nicht mit Sicherheit erwiesen ist, daß alle Keime nur an der Oberfläche der Pflanzen sich finden und nicht auch in Spaltöffnungen, Atemhöhlen, Intercellularräumen etc. Die unter solchen Umständen sich vorfindenden Bakterien müssen beim Schütteln mit Wasser und Untersuchen der Keimzahl desselben unberücksichtigt bleiben, während sie bei vorsichtigem Zerreiben der Pflanzensubstanz mit Wasser auf den Gelatineplatten auch zur Entwickelung gelangen können. Nach den Untersuchungen von Buchner und Lehmann ist das Vorkommen von Bakterien im Innern des pflanzlichen Gewebes eine abnormale, pathologische Erscheinung. Doch brauchen wir gar nicht an das Vorkommen von Mikroorganismen im Innern pflanzlichen Gewebes zu denken, um das Zerreiben der Pflanzensubstanz behufs Bestimmung der Keimzahl dem bloßen Abspülen mit Wasser vorzuziehen; die Bedenken bezüglich des festen Haftens von Mikroben in Vertiefungen der Pflanzenoberfläche schon berechtigen die Anwendung der abgeänderten Methode. Uebrigens zeigte ein kleiner Versuch mit Blättern von Anthriscus silvestris Hoffm. und Trifolium medium L., daß trotz 5 Minuten dauerndem kräftigen Schütteln bei weitem nicht alle Keime abgeschwemmt wurden.

Pflanzenart:	Abgeschwemmte Keime:	Nichtabgeschwemmte Keime:
Anthriscus silvestris Hoffm.	360	100
Trifolium medium L.	2500	1800

Es ist für das Vorkommen von Bakterien auf Pflanzen für die ersteren von größter Wichtigkeit, daß sie nicht leicht durch die

atmosphärischen Niederschläge von ihrem Standorte weggespült werden, was durch Bildung von Bakterienschleim erreicht wird. Auf diese bemerkenswerte Eigenschaft soll später noch kurz eingetreten werden.

Es dürfte kaum nötig sein hervorzuheben, daß durch die angestellten Untersuchungen keineswegs die absoluten Keimzahlen per Gramm der betreffenden Pflanzensubstanz festgestellt werden konnten, sondern nur die Keime berücksichtigt wurden, die sich auf Platten von gewöhnlicher Fleischwasserpeptongelatine mit schwach alkalischer Reaktion zu entwickeln vermochten. Wie zahlreiche neuere Forschungen ergeben haben, existieren eine ganze Reihe luftliebender Bakterienarten, die entweder gar nicht oder nicht ohne weiteres auf gewöhnlicher Gelatine wachsen, und deren Vorkommen ist zum Teil für die Oberfläche der Pflanzen nicht ausgeschlossen, abgesehen von den nicht luftliebenden Mikroorganismen, die kaum auf dem luftumspülten Pflanzengewebe eine nennenswerte, höchstens passive Rolle spielen können. Doch soviel ist mit Gewißheit anzunehmen, daß die auf Gelatine wachsenden Mikroorganismen unter gewöhnlichen Verhältnissen quantitativ in der Bakterienflora der oberirdischen grünen Pflanzenteile dominieren.

Tabelle I.
Bakterienflora normal entwickelter grüner Pflanzenteile.
(Vorwiegend Blätter.)

Pflanzenspecies	Standort	Zahl und Art der entwickelungsfähigen Keime per Gramm Pflanzensubstanz			
		Total	Proz. Bact. fluorescens	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
Dactylis glomerata L.	Futterwiese	280 000	.	60	40
Triticum Spelta L.	Getreideacker	200 000	.	100	.
Primula elatior Jacq.	Feuchte Futterwiese	600 000	.	100	.
Allium ursinum L.	Wald	200 000	.	100	.
Lamium purpureum L.	Lichtes Gebüsch	180 000	7	90	3
Plantago lanceolata L.	Futterwiese	1 100 000	50	50	.
dto.	dto.	1 200 000	50	50	.
Anthriscus silvestris Hoffm.	dto.	720 000	6	77	17
dto.	dto.	200 000	.	70	30
Heracleum Sphondylium L.	dto.	300 000	.	75	25
dto.	dto.	15 000 000	33	34	33
dto.	dto.	3 000 000	16	68	16
Medicago sativa L.	dto.	450 000	15	55	30
Trifolium repens L.	dto.	30 000 000	.	20	80
dto.	dto.	2 400 000	50	50	.
dto.	dto.	100 000	.	100	.
Trifolium pratense L.	dto.	1 200 000	.	97	3
Trifolium medium L.	dto.	5 000 000	.	100	.
dto.	dto.	3 600 000	.	100	.
dto.	dto.	960 000	.	97	3
Valerianella olitoria Poll.	Grabenrand	320 000	2	95	3
Leontodon hispidus L.	Futterwiese	1 200 000	.	97	3
Taraxacum officinale Web.	dto.	1 320 000	.	100	.
dto.	dto.	1 800 000	20	60	20
dto.	Lichtes Gebüsch	160 000	5	85	10

Wenn wir die in der Tabelle I zusammengestellten Resultate mit denjenigen vergleichen, welche seinerzeit R. Burri erhielt, so können wir konstatieren, daß jene Befunde im allgemeinen bedeutend höhere Keimzahlen ergaben als die vorliegenden, und daß ferner dort die größte Keimzahl rund das 6300 fache der kleinsten betrug, während bei unseren Untersuchungen das Maximum die minimale Mikroorganismenzahl nur um das 300 fache übertraf. Vielleicht ist die Ursache, daß oben zitierter Autor im allgemeinen bedeutend höhere Keimzahlen erhielt, darin zu erkennen, daß die Untersuchungen im Hochsommer (Juli und August) ausgeführt wurden, nachdem die Mikroben während eines großen Zeitraumes sich auf den Pflanzen auszubreiten vermochten und da quantitativ stark vertreten sind, wo die Entwickelungsbedingungen sich günstig gestalteten. Die von uns mitgeteilten Keimzahlbestimmungen wurden im April ausgeführt, also zu einer Zeit, wo die oben angeführten Faktoren nicht lange auf die Mikrobenflora einzuwirken vermochten; zudem müssen wir bemerken, daß die vorliegenden Resultate nicht von so zahlreichen und verschiedenen Pflanzenarten entstammen wie die von R. Burri publizierten und deshalb auch die Wahrscheinlichkeit, auf extreme Werte zu stoßen, eine geringere war.

Die Keimzahlen der untersuchten 25 Pflanzen zeigen aber doch schon zur Genüge, daß die Zahl der Bakterien per Gramm Pflanzensubstanz mit nur relativ kleiner Oberfläche eine viel zu große ist, als daß bloßes Absetzen aus der Luft eine hinreichende Erklärung ihres Vorkommens wäre. Betrachten wir aber erst die qualitative Zusammensetzung dieser Mikrobenflora auf den Pflanzen, so wird uns vollends klar, daß dieselbe nicht aus der Luft stammen kann. Es muß auch bei nur flüchtiger Durchsicht der Kolonnen in Tabelle I, welche die prozentuelle Verteilung der Keime auf die einzelnen Species angeben, auffallen, was für eine wichtige Rolle das Bacterium herbicola aureum [1]) unter den pflanzenbewohnenden Bakterien einnimmt; ja daß nicht selten die ganze Mikrobenflora einer Pflanze nur aus dieser Bakterienspecies besteht, und doch finden wir gerade diese Stäbchenart nicht unter den regelmäßigen „Luftkeimen". Daneben finden sich auf den Pflanzen auch sehr verbreitet: Bacterium fluorescens (Flügge) L. et N. [2]), Bacterium putidum (Flügge) L. et N. und Bacterium herbicola rubrum n. sp. Die übrigen Mikroorganismen treten quantitativ zurück. Sie bestehen aus Schimmelpilzen, Bacillus mesentericus (Flügge) L. et N., Bacillus vulgatus (Flügge) Migula, Bacterium Coli (Escherich) L. et N., sowie einigen am Schlusse beschriebenen nicht identifizierbaren Arten [3]). Auch diese

1) Die nähere Beschreibung verschiedener Bakterienspecies folgt am Schlusse der Mitteilung.

2) Nomenklatur nach: Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 3. Aufl. München 1904.

3) Ohne Zweifel wird mit der Vergrößerung des auf seinen Keimgehalt geprüften Pflanzenmateriales auch die Zahl der häufig vorkommenden Arten von Mikroorganismen sich vermehren. So trafen wir kürzlich auf den Blättern ver-

Versuche weisen also daraufhin, daß die Bakterienflora einer Pflanze der Hauptsache nach das Ergebnis einer während des Wachstums der Pflanze auf der Oberfläche derselben stattgefundenen lebhaften Bakterienentwickelung ist.

Was nun den direkten Nachweis einer Bakterienvermehrung auf gesunden Pflanzen betrifft, so haben wir denselben zu leisten versucht durch vergleichende qualitative und quantitative Untersuchungen über die Bakterien von Früchten und Samen landwirtschaftlich wichtiger Nutzpflanzen und der aus ihnen gezogenen gesunden Keimlinge. Eine Besiedelung der Keimpflanzen mit Bakterien durch keimführende Luftströme, Niederschläge und ähnlich wirkende äußere Umstände konnten hierbei nach Belieben ausgeschlossen werden.

A. Saatmaterialien.

In der Literatur sind die Angaben über die Zahl und Art der Mikroorganismen auf gesunden Samen und Früchten recht spärlich. F. Hoffmann stellte Untersuchungen an über die Größe der Mikroorganismenzahl auf Getreidekörnern unter verschiedenen Bedingungen [1]). Uns interessiert hier besonders die Mikrobenzahl per Gramm Saatgut verschiedener Provenienz bei unveränderten äußeren Bedingungen (Anfeuchten, Luftzutritt, Keimung). Hoffmann ließ 7,5 g jeder Getreideprobe mit 300 ccm sterilisiertem Wasser $^1/_2$ Stunde unter häufigem Umschütteln stehen. Von der erhaltenen Aufschwemmung wurden Fleischextraktagar-, Fleischextraktgelatine- und Bierwürzeagar-Platten angelegt und 2—3 Tage bei Zimmertemperatur belassen. Von den 35 untersuchten Saatproben ermittelte der Autor per Gramm: Die Gesamtzahl der Keime durch Zählen der Fleischextraktagar-Platten, die Menge der verflüssigenden Bakterien auf den Gelatineplatten und die entwickelungsfähigen Schimmelpilze und Hefen auf dem Bierwürzeagar. Es seien hier nur die beiden kleinsten und größten festgestellten Keimzahlen per Gramm Saatmaterial angeführt:

Getreideart und Herkunft	Keimzahl	Gelatine verflüssigende Arten	Schimmelpilze
Rumänischer Weizen, Braila	74 000	—	8000
Weizen, Schwerin	90 000	30 000	4000
Hafer, Falkenrhede	11 045 000	82 000	4000
Hafer v. Himmelsthür	11 640 000	—	—

Nähere Angaben über die Art der gefundenen Bakterien macht Hoffmann nicht, weist aber noch darauf hin, daß bei ein und derselben Getreideart der Bakteriengehalt der Körner sehr stark variiert.

In einer Abhandlung über die Mikroorganismen der Gersten- und Malzkörner berichtet T. Chrzaszcz [2]) über den Keimgehalt

schiedener Waldbäume einen Schimmelpilz weit vorherrschend. Uebrigens könnten Jahreszeit, Witterung etc. einen entscheidenden Einfluß auf die Mikrobenflora der Pflanzen ausüben.

1) Wochenschrift für Brauerei. Jg. XIII. 1896. No. 44.

2) Wochenschrift f. Brauerei. Jg. XIX. 1902. No. 40.

der Schüppchen von 10 Gerstensorten sowie die hierbei erhaltenen Bakterienarten. Wie aus der Zeichnung, die jener Publikation beigegeben, ersichtlich ist, traf der Genannte auf Gerste recht häufig eine Mikrobenart mit charakteristischer Zooglöenbildung, die auch von uns als am häufigsten vorkommend auf Samen und Früchten konstatiert wurde und mit Bacterium herbicola aureum identisch ist. L. Hiltner publizierte in seinen Untersuchungen über die Keimungsverhältnisse der Leguminosensamen und ihre Beeinflussung durch Organismenwirkung [1]) ein reichhaltiges Material, das sich aber vorherrschend auf kranke oder zu Krankheiten neigende, abnormale Leguminosensamen bezieht und deshalb an dieser Stelle, wo nur die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimlinge berücksichtigt werden soll, übergangen werden muß.

Wie aus untenstehender Tabelle II ersichtlich ist, untersuchten wir 44 verschiedene Saatproben auf ihren Bakteriengehalt, wovon 11 zweimal am gleichen Tage zur Prüfung gelangten, um über die Variabilität der Keimzahl innerhalb einer Probe einigermaßen orientiert zu werden. Die angewandte Untersuchungsmethode ist eine sehr einfache. Je 3 Samen resp. Früchte wurden in sterilisierter Reibschale mit 10 ccm sterilem Wasser unter möglichster Verhütung jeder Verunreinigung vorsichtig zerrieben, bis eine gleichmäßig getrübte Flüssigkeit vorhanden war. Von dieser Aufschwemmung wurden Verdünnungen hergestellt und entsprechende Plattenkulturen mit gewöhnlicher, schwach alkalischer (auf Curcuma eingestellter) Gelatine gegossen. Wir hielten es auch hier für zweckmäßig, die Samen und Früchte zu zerreiben und nicht durch bloßes Schütteln mit Wasser die Keimzahl festzustellen. Die Bedenken, die uns bewogen, die grüne Pflanzensubstanz ebenso zu zerkleinern, gelten in bedeutend höherem Maße für das Saatmaterial. Die zahllosen Vertiefungen, wie sie beispielsweise die Frucht der Runkelrübe, die Furche der Getreidekörner etc. bieten, gewähren den Mikroorganismen Aufenthaltsorte, aus denen sie durch bloßes Schütteln mit Wasser nicht leicht herausgebracht werden. Außerdem befinden sich die Mikroben auf den Samen sehr wahrscheinlich nur in passivem Zustande, da ihnen die nötigen Nährstoffe, vorab das Wasser, fehlen. Sie können in diesem Zustande infolge der Bildung von Bakterienschleim und Eintrocknens desselben recht fest an der Unterlage haften. Dieser Umstand bedingt die schwere Abschwemmbarkeit der Keime, die für das Vorkommen der Mikroorganismen auf Saatgut von größter Bedeutung ist. Wie übrigens Tabelle III deutlich zeigt, wo Proben verschiedener Sämereien auf die Abschwemmbarkeit der Mikroben direkt geprüft wurden, ist das Zerreiben des zu untersuchenden Materiales dem bloßen Schütteln mit Wasser entschieden vorzuziehen.

Inwiefern die Bakterien in die mit Schutzstoffen (Anthocyan, Gerbstoffen etc.) ausgestattete Samenschale einzudringen vermögen, verfolgten wir nicht, da die für uns in Betracht kommenden Keime

---

1) Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am kaiserlichen Gesundheitsamte. Berlin (Paul Parey) 1902.

Tabelle II. Die Bakterienflora gesunder Samen und Früchte.

Pflanzenspecies	Zahl der entwickelungsfähig. Keime pro Same oder Frucht	Quantitative Verteilung der Keime auf die verschied. Species		
		Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
I. Avena sativa L. S.[1])	1 700	.	100	.
I. Avena sativa L. S.	23 300	.	100	.
II. Avena sativa L. S.	23 300	.	100	.
III. Avena sativa L. S.	30 000	.	100	.
III. Avena sativa L. S.	35 000	.	100	.
Arrhenatherum elatius M. et K. F.[1])	steril	.	.	.
Dactylis glomerata L. S.	7	.	100	.
Poa compressa L. F.	steril	.	.	.
Poa trivialis L. S.	110	3	.	97
Lolium italicum A. Br. F.	80	12	.	88
I. Hordeum vulgare L. S.	80 000	8	92	.
I. Hordeum vulgare L. S.	3 100	.	100	.
II. Hordeum vulgare L. S.	30 000	11	89	.
I. Secale cereale L. S.	1 600	.	100	.
I. Secale cereale L. S.	23	.	100	.
II. Secale cereale L. S.	3 000	.	100	.
III. Secale cereale L. S.	430	11	89	.
Triticum monococcum L. S.	1 100	.	100	.
Triticum dicoccum Schrank. S.	5 600	1	99	.
Triticum durum Desf.	3 100	3	97	.
Triticum polonicum L. S.	5 000	.	100	.
I. Triticum Spelta L. S.	10 000	.	100	.
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.
I. Triticum vulgare Vill. S.	8 000	.	100	.
II. Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.
II. Triticum vulgare Vill. S.	20 000	.	100	.
III. Triticum vulgare Vill. S.	83	.	100	.
IV. Triticum vulgare Vill. S.	4 000	1	99	.
I. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	800 000	33	34	33
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	300 000	60	40	.
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba S.	53	.	60	40
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. altissima F.	23 000	.	.	100
Brassica napus var. rapifera f. napobrassica L. S.	30	.	88	12
I. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.
II. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.
II. Medicago sativa L. S.	8 300	8	92	.
Medicago lupulina L. S.	20	.	100	.
I. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.
II. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.
II. Trifolium pratense L. S.	10 000	.	93	7
Trifolium repens L. S.	570	47	.	53
Trifolium hybridum L. S.	56	.	100	.
Anthyllis vulneraria L. S.	steril	.	.	.
I. Onobrychis viciaefolia Scop. F.	100	.	67	33
I. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	130	5	90	5
II. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	1 300	.	.	100
III. Onobrychis viciaefolia Scop. F.	2 000	.	100	.
III. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	23	.	72	28
I. Vicia sativa L. S.	70	.	20	80
II. Vicia sativa L. S.	17	.	.	100
Linum usitatissimum var. vulgare Schüb. et Mart. S.	20	.	15	85
I. Daucus carota L. F.	130	26	.	74
II. Daucus carota L. F.	steril	.	.	.
Achillea millefolium L. F.	4 000	.	100	.

1) S. = Same, F. = Frucht. Die analogen römischen Ziffern geben an, daß das verarbeitete Material der gleichen Saatprobe entstammt.

offenbar nur die Oberfläche bewohnen, während andere Arten (besonders Pektinstoffe lösende Bakterien) sich nach den Untersuchungen Hiltners auch im Innern der Samen befinden können. Diese Pektinvergärer sind dann aber als Krankheitserreger anzusprechen. Hiltner stimmt mit Buchner in der Ansicht überein, daß in frischen, gesunden Samen weder Pilze noch Bakterien angetroffen werden. Dies gilt aber, wie die nachfolgenden Ausführungen zeigen, keineswegs für die Oberfläche der gesunden Samen. Obwohl nur gesunde und in frischer Keimkraft befindliche Saatproben zur Untersuchung gelangten, erwiesen sich doch nur wenige als steril, die meisten zeigten eine ganz bedeutende Mikrobenflora, die nicht bloß auf Verstaubung bezw. Beschmutzung mit Erde etc. zurückgeführt werden kann. In der folgenden Tabelle II. wurde die Zahl der entwickelungsfähigen Keime des Samens oder der Frucht zur vergleichenden Grundlage gewählt, um später die von einem Keimling gleicher Provenienz festgestellte Keimzahl direkt mit der Flora des betreffenden Samens vergleichen zu können.

Wenn wir die angegebenen Befunde über die Bakterienflora gesunder Samen und Früchte durchgehen, so fällt uns sofort auf, daß von den untersuchten 55 Proben Saatmaterial sich nur 7 als frei von Mikroorganismen erwiesen, während eine achte (II. Trifolium pratense L. Samen) sich in den ersten 3 Körnern als steril erwies, in den folgenden 3 dagegen eine bedeutende Keimzahl zeigte. Die 7 angeführten Sämereien (Arrhenatherum elatius M. et K. Frucht, Poa compressa L. Frucht, I. Medicago sativa L. Frucht, II. Medicago sativa L. Frucht, I. Trifolium pratense L. Samen, Anthyllis vulneraria L. Samen und II. Daucus carota L. Frucht) ergaben auch in Bouillon kein Wachstum von Mikroben. Wahrscheinlich wären aber doch bei Entnahme von größeren Durchschnittsproben keimhaltige Körner in größerer oder kleinerer Zahl zu konstatieren gewesen. Im großen und ganzen ist die Zahl der entwickelungsfähigen Keime auf den untersuchten Saatmaterialien eine so bedeutende, besonders wenn die geringe Größe der Objekte in Betracht gezogen wird, daß schwerlich nur von zufälliger Verunreinigung gesprochen werden kann.

Es kann nicht überraschen, wenn auf den Samen resp. Früchten von verschiedenen Pflanzengattungen auch sehr divergierende Keimzahlen zu konstatieren sind, denn einerseits können äußere Bedingungen, die auf Pflanze und Saatmaterial einwirkten, wie auch die Beschaffenheit der Samen selbst, ganz enorme Unterschiede hervorrufen. Man ist versucht anzunehmen, daß die Oberflächenbeschaffenheit der Samen resp. Früchte in erster Linie maßgebend sei für den Keimgehalt der betreffenden Saat, während in Wirklichkeit klimatischen Einflüssen und besonders auch den Eigentümlichkeiten der Pflanzenspecies ein mindestens so großer Einfluß zugesprochen werden muß. Die Behauptung, je rauher die Oberfläche des zu untersuchenden Samens, desto zahlreichere Keime sind auf demselben zu erwarten, dagegen je glatter dieselbe ge-

staltet ist, um so weniger Mikroorganismen vermögen sich festzuhalten, scheint einen sehr beschränkten Anspruch auf Richtigkeit erheben zu können. Sie mag zutreffen, wenn gleiche äußere Bedingungen vor und nach der Ernte, sowie möglichst wenig differierende Eigenschaften der Pflanzenarten vorausgesetzt werden können. Daß die Oberflächengestaltung der Unterlage von Einfluß ist, dafür spricht der hohe Bakteriengehalt der Frucht von I. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F. mit 800000 und II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F. mit 300000 Keimen, denn die Rübenfrucht mit ihren zahlreichen größeren und kleineren Vertiefungen ist wie geschaffen zur Ansiedelung und zum Festhalten größter Mikrobenmengen. Ferner zeigt den Einfluß der Unterlage das Fehlen von Keimen auf den glatten Samen von Trifolium pratense L. in 2 Fällen und von Anthyllis vulneraria L. Allein wir können auch konstatieren, daß andererseits Früchte von Daucus carota L., Arrhenatherum elatius M. et K., Poa compressa L. und von Medicago sativa L. in 2 Fällen sich als steril erwiesen, während doch diese Früchte reichlich Schlupfwinkel für Mikroorganismen bieten. Uebrigens weisen glatte Samen, die in anderen Fällen sich als bakterienarm oder sogar keimfrei erwiesen, ganz beträchtliche Keimzahlen auf; beispielsweise in einer Samenprobe von Trifolium pratense L. 10000 Keime pro Samen — Gründe genug, um auch den Einfluß anderer Faktoren als nur der Beschaffenheit der Oberfläche anerkennen zu müssen.

Die Frage, ob bestimmte Gruppen von Pflanzensamen besonders reich an Mikroben sind, läßt sich aus den angestellten Untersuchungen nicht beantworten, da es hierzu eines viel umfassenderen Materiales bedarf. Wir können hier aber doch darauf hinweisen, daß die Getreidekörner, besonders der Hafer, sich durch relativ hohen Keimgehalt auszeichneten.

Der Gehalt des Saatmateriales an Bakterien variiert aber nicht nur bei den verschiedenen Pflanzengattungen, sondern auch innerhalb einer Species ganz bedeutend bei Proben verschiedener Provenienz. So variierten Haferproben wechselnder Herkunft in der Keimzahl von 1700 bis 35000, Roggen von 23 bis 3000, Weizen von 83 bis 20000, Rotklee von 0 bis 10000 per Same. Um diese Veränderlichkeit im Bakteriengehalt einer Samenart verschiedener Herkunft zu erklären, brauchen wir uns nur zu vergegenwärtigen, welchen Einfluß die Ernährung der Pflanze, die Witterung während des Heranreifens, verschiedene Verhältnisse bei der Ernte und während des Lagerns der Samen, sowie auch Sorteneigentümlichkeiten auf die Entwickelung der Bakterienflora haben können.

Ebenso erklären diese angeführten Faktoren die von uns festgestellte Variabilität bezüglich der Bakterienflora der einzelnen Samen und Früchte innerhalb einer Saatprobe, denn jede Einzelpflanze kann in ihren Fortpflanzungsorganen individuelle Eigenheiten besitzen und die äußeren Umstände können in verschieden ausgiebigem Grade auf die Mikroben einwirken in einer Art und Weise, die unserer Beobachtung vollkommen entgeht. Zudem müssen wir bemerken, daß die in den Handel gebrachten Saatmaterialien (und

um solche handelt es sich bei den vorliegenden Untersuchungen weit vorherrschend) ein Gemisch von Samen verschiedener Felder, nicht selten ganz verschiedener Herkunft, darstellen, weshalb die zur Erklärung der Veränderlichkeit der Mikroorganismenflora bei Saatproben einer Pflanzenspecies verschiedenen Ursprunges herangezogenen Faktoren auch hier zur Geltung kommen können. Um Aufschluß über die Variabilität der Keimzahl innerhalb einer Samenprobe zu erhalten, wurden von derselben zu gleicher Zeit zwei entsprechende Quantitäten verarbeitet. In der Tabelle tragen die betreffenden Versuche gleiche römische Ziffer. Hierbei erhielten wir bei Avena sativa L. S. 1700 und 23300 Keime per Same; bei Hordeum vulgare L. S. 3100 und 80000; Secale cereale L. S. 23 und 1600; Triticum vulgare Vill. S. 3100 und 20000 und bei Trifolium pratense L. S. 0 und 10.000 Keime. Nur in einem Falle bei III. Avena sativa L. S. zeigte sich mit 30000 und 35000 Keimen per Same der gleichen Probe eine annähernde Uebereinstimmung.

Interessant ist es, die Keimzahlen der Frucht und des daraus gewonnenen Samens einer Pflanzenspecies miteinander zu vergleichen. Zur Gewinnung von möglichst einwandsfrei enthobenen Samen aus den Früchten wurde folgendermaßen verfahren: Wir schüttelten die Früchte ca. 10 Minuten mit häufig erneuertem sterilem Wasser und legten sie dann eine Minute in 1‰ige Sublimatlösung, um die abschwemmbaren und leicht zu tötenden Mikroorganismen zu beseitigen. Nachher wurden die Früchte von Beta vulgaris unter möglichster Verhütung jeder Verunreinigung mit dem Hammer auf einer Glasplatte zerschlagen und die Samen mittels sterilisierter Pincette herausgelesen, während die übrigen Früchte mit einem Messerchen vorsichtig aufgeschnitten wurden, um die Samen zu erhalten. Unter sonst gleichen Umständen ist man berechtigt, auf den Früchten eine größere Zahl von Mikroben zu erwarten, als auf den daraus gewonnenen Samen, denn erstere sind der Außenwelt bezw. allfälliger Infektionsmöglichkeit mehr ausgesetzt und besitzen eine größere Oberfläche, die sich zudem meist durch ihre Beschaffenheit vorzüglich zur Festsetzung von Bakterien eignet. Allein die gewonnenen Resultate zeigen, daß nur die Frucht von II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba mit 300000, Same mit 53 Keimen und die Frucht von III. Onobrychis viciaefolia Scop. mit 2000, Same mit 23 Keimen den Erwartungen entsprachen, während die Frucht von II. Triticum Spelta L. 8330, der Same 43300 Keime zählte, ebenso die Frucht von II. Medicago sativa L. 0, der Same 8300 Keime und die Frucht von I. Onobrychis viciaefolia Scop. 100, der Same dagegen 130 Keime. Dieses unerwartete Ergebnis kann wahrscheinlich dadurch erklärt werden, daß zur Feststellung der Keimzahlen von Frucht und Same wohl die gleiche Saatprobe verwendet wurde, nicht aber die gleichen Individuen und daß die Früchte, aus denen die Samen isoliert wurden, an und für sich schon sehr bakterienreich waren gegenüber denen, die zur Keimzahlbestimmung der Frucht dienten. Andererseits gehört es nicht zu den Unmöglich-

keiten, daß vor, während oder nach der Befruchtung des pflanzlichen Ovulums sich Bakterien auf demselben festsetzen und sich weiter zu entwickeln vermögen.

Die Variabilität der Keimzahlen bei den verschiedenen Pflanzengattungen und innerhalb derselben Art und Probe zeigt sich auch recht deutlich, wenn wir die Zahl der Bakterien per Quadratmillimeter Oberfläche des betreffenden Saatgutes bestimmen. Anspruch auf Genauigkeit können zwar die auf das Quadratmillimeter Oberfläche reduzierten Keimzahlen nicht erheben, denn die Mikroorganismen sind kaum gleichmäßig über die Samenoberfläche ausgebreitet, sondern sitzen sehr wahrscheinlich hauptsächlich in den Vertiefungen haufenweise beisammen. Die so berechnete Zahl der Mikroben schwankt per Quadratmillimeter von 1 bis zu vielen Hunderten. Das maximalste Vorkommen wurde konstatiert bei I. Hordeum vulgare L. S. mit 1600, bei II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F. mit 3000 und bei I. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F. mit 10000 Keimen.

Um die von uns eruierten Keimzahlen mit den von J. Hoffmann gefundenen direkt vergleichen zu können, wollen wir hier die größten Keimzahlen einiger Samen per Gramm bestimmen und die von Hoffmann gefundenen höchsten Zahlen daneben setzen.

Pflanzenspecies	Zahl der entwickelungsfähigen Keime per Gramm Saatmaterial	
	a) bei unseren Untersuchungen	b) bei den Untersuch. v. Hoffmann
Avena sativa L.	1 330 000	11 640 000
Hordeum vulgare L.	1 600 000	7 740 000
Secale cereale L.	126 000	2 820 000
Triticum monococcum L.	49 500	.
„ dicoccum Schrank.	128 800	.
„ durum Desf.	77 500	.
„ polonicum L.	90 000	.
„ Spelta L.	1 299 000	.
„ vulgare Vill.	500 000	2 400 000
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba	60 000 000	.
Medicago sativa L.	4 150 000	.
Trifolium pratense L.	5 000 000	.
Onobrychis viciaefolia Scop.	260 000	.

Wie diese kleine Zusammenstellung zeigt, hat Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba von den untersuchten Saatmaterialien mit 60000000 Mikroben per Gramm die höchste Keimzahl. Ferner ist ersichtlich, daß J. Hoffmann höhere Keimzahlen bei den untersuchten Getreidearten erhielt als wir.

Betrachten wir noch kurz die Arten von Bakterien, die auf den verschiedenen Samen und Früchten häufiger zu treffen sind, so fällt uns die relative Armut an Species auf bei Material, das so häufiger Infektionsmöglichkeit ausgesetzt ist. Besonders eine Stäbchenbakterie, das Bacterium herbicola aureum, dessen genauere Beschreibung in Zusammenhang mit den übrigen, nicht mit schon bekannten Arten identifizierbaren Species am Schlusse dieser Publikation sich findet, ist der auf Sämereien weitaus am häufigsten zu treffende Spaltpilz. Von den 55 auf ihre Bakterien-

flora geprüften Saatproben erwiesen sich 21 als sozusagen ausschließlich von diesem Mikroorganismus bewohnt; von den übrigen 34 waren 8 steril und nur 7 Proben waren frei von Bact. herbicola aureum, während es auf den bleibenden 19 untersuchten Samen meist eine vorherrschende Stellung in der Zusammensetzung der Mikrobenflora einnimmt. Im quantitativen Vorkommen spielte Bacterium fluorescens (Flügge) L. et N. die zweitwichtigste Rolle, bildete aber nie eine Reinkultur, sondern erreichte sein maximales Vorkommen auf der Frucht von II Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba, wo es 60 Proz. der gesamten Mikrobenflora ausmachte. Von den übrigen Mikroorganismen trafen wir öfter: Schimmelpilze (nicht näher bestimmt), Bacterium putidum (Flügge) L. et N., Bacillus Megatherium (De Bary), Bacillus vulgatus (Flügge) Migula, Bacillus mesentericus (Flügge) L. et N., Bacterium Coli (Escherich) L. et N., einige Streptothrix-Arten, sowie wenige Bakterienspecies, die nicht mit schon bekannten identifiziert werden konnten und später ausführlich beschrieben sind.

Ueber die Herkunft der auf den Früchten und Samen vorkommenden Mikroorganismen können wir nur Vermutungen äußern. Soviel steht wohl fest, daß es sich nicht bloß um zufällige Verunreinigungen handelt, sondern um eine Bakterienflora, die auf normalem Saatmaterial mit ziemlicher Sicherheit zu treffen ist. Was die einzelnen Species anbelangt, so sind wir der Meinung, daß es sich bei Bacterium herbicola aureum, Bact. fluorescens und Bact. putidum um eine direkte Infektion des gesunden Samens resp. der gesunden Frucht von der Mutterpflanze aus handelt, denn diese drei Bakterienarten sind die nämlichen, welche auch auf gesunden Pflanzen dominieren. Bei dem Vorkommen der übrigen Mikroben mögen zufällige Verunreinigungen eine wichtige Rolle spielen. Ueber Ort, Zeit und Modus der Frucht- und Sameninfektion durch die Mutterpflanze vermögen wir keine Anhaltspunkte zu geben. Auf ausgereiftem, trocken aufbewahrtem Saatmaterial sitzen die Bakterien wahrscheinlich nur in passivem Zustande auf der Oberfläche, wenigstens ist nicht einzusehen, wie bei mangelndem Wasser und nur in geringsten Mengen vorkommenden Nährstoffen eine nennenswerte Vermehrung eintreten soll.

Es war zu erwarten, daß auf den Gelatineplatten sich nicht alle Keime, die eiweißreichen Nährboden bevorzugen, entwickeln werden, jedenfalls nicht in den wenigen Tagen, während denen die Platten bis zu ihrer gänzlichen Verflüssigung beobachtet werden konnten. Die Aussaat von je 3 Samen resp. Früchten in 10 ccm Fleischwasserpeptonbouillon sollte uns darüber Aufschluß geben, ob die durch das angewandte Plattenverfahren als steril sich erweisenden Saatmaterialien auch in Bouillon keine entwickelungsfähigen Keime besaßen. Von den 6 sterilen Saatproben erwiesen sich 5 auch in Bouillon keimfrei. Die beschickten Reagenzgläschen wurden im Thermostaten bei 30° C aufbewahrt und je nach Ablauf von 4, 10 und 16 Tagen kleine Mengen zur mikroskopischen Unter-

suchung entnommen. Die gewonnenen Resultate hier kurz zusammenfassend. kann gesagt werden, daß im allgemeinen, wenn überhaupt Wachstum eintrat, schon nach Verlauf von 4 Tagen eine mehr oder weniger getrübte Flüssigkeit zu konstatieren war, die eine ziemlich derbe, oft stark faltige Kahmhaut trug und eine schwache Bildung von Bodensatz aufwies. Die Trübung in der Bouillon sowie der Bodensatz bestanden vorwiegend aus ziemlich lebhaft beweglichen Kurzstäbchen, während die Kahmhaut meist aus einer Reinkultur von unbeweglichen, stark verschleimten Langstäbchen von variabler Größe zusammengesetzt war. Im Verlaufe der Weiterentwickelung (nach 10 und 16 Tagen) zeigte sich entweder eine Vermehrung des Bodensatzes und Derberwerden der Kahmhaut, oder aber es gelangten andere Bakterienspecies zur Entwickelung. In etwa der Hälfte der untersuchten Fälle war letztere Erscheinung zu konstatieren, die durch eine schwächere oder kräftigere Entwickelung von Gas und übelriechenden Zersetzungsprodukten, vorwiegend Schwefelwasserstoff, Indol und Skatol eingeleitet wurde und gewöhnlich mit gänzlichem Zerfall der eingesetzten Samen und Früchte endigte. Die Mikrobenflora zeigte eine sehr bunte Zusammensetzung. Neben dominierend vorkommenden Kurzstäbchen tummelten sich sporogene und nicht sporenbildende Langstäbchen, die zum Teil hübsche Clostridien- und Plektridien-Formen aufwiesen, welche im vegetativen Stadium durch ihre zitternd schlängelnde Bewegung sehr an Pektinstoffe vergärende Bakterien erinnerten. Für das Vorkommen von Pektinvergärern spricht auch das allmähliche Auflösen der Samen zu einem gleichmäßigen Brei, doch konnte die so gewonnene Mikroflora nicht weiter verfolgt werden. (Fortsetzung folgt.)

Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév.

Par **Albert Eberhardt,**

Professeur de gymnase à St-Imier.

Avec 1 tableau.

(Suite.)

Les branches, et les tiges fructifères très gonflées, montrent un épiderme ayant conservé longtemps la faculté de se diviser et dont les cellules sont moins allongées mais plus larges que les éléments épidermiques normaux. L'écorce présente une bipartition assez fréquente de ses cellules en même temps qu'une hypertrophie considérable. Sous presque toutes les pustules, la première assise corticale est violacée. Les fibres dorso-libériennes, la gaîne périmédullaire, les fibres interfasciculaires sont hypertrophiées et à parois minces. Les deux méristèmes, quoique très actifs, sont irréguliers. Le phloème a ses tubes un peu élargis, et le bois présente des lignes radiales de parenchyme qui divisent et élargissent le faisceau. La moelle est hypertrophiée. Tous les parenchymes sont parcourus par le mycelium. D'autres tiges, peu gonflées, n'ont une hypertrophie que dans l'épi-

derme et les assises corticales. Tous les autres tissus sont normaux. Au reste, il existe de nombreux types intermédiaires.

La feuille saine a ses cellules épidermiques sinueuses, et un parenchyme vert palissadique à sa face supérieure. Ce même organe entièrement attaqué montre les épidermes à cellules gonflées, non sinueuses avec très nombreux stomates. Tous les éléments du parenchyme sont arrondis et hypertrophiés; ils donnent à la feuille une épaisseur double ou triple de l'épaisseur normale. Le cambium des grandes nervures est actif.

La fleur monstrueuse a son calice formé de parenchyme vert hypertrophié. L'épiderme de la corolle a ses cellules non papilleuses dans la partie médiane virescente, et dans ce cas, on y observe des stomates assez nombreux. Les cellules épidermiques conservent leurs papilles et sont dépourvues de stomates dans les parties marginales restées jaunes. Le parenchyme est hypertrophié; il est chlorophyllien vers le milieu du pétale et à grains jaunes sur les bords de cet organe. Corolle et calice ont des faisceaux libéro-ligneux étirés en largeur; certains d'entre eux présentent une assise cambiale peu active. Le filet de l'étamine a aussi ses éléments gonflés et verts; son épiderme porte de nombreux stomates. L'anthère, dont les loges sont écrasées et irrégulières, a son assise spiralée transformée en parenchyme chlorophyllien sans bandes spiraliformes; son épiderme est pourvu de stomates. Certaines anthères montrent les sacs polliniques entièrement transformés en parenchyme.

Le pistil sain offre une coupe semblable à celles étudiées dans Capsella et Lepidium; l'assise fibro-palissadique y est aussi à parois minces. Mais dans un fruit presque mûr, cette même assise à ses membranes très épaissies, et l'épiderme interne, au contraire de ce que l'on observe dans Capsella et Lepidium sains, ne s'écrase jamais et reste toujours nettement visible.

Les pistils anormaux ont un épiderme externe gardant longtemps la faculté de se diviser et de former des stomates. Le parenchyme est très hypertrophié; c'est le seul tissu de toute la plante qui nous ait livré des oospores; ces dernières ne se trouvaient que dans quelques pistils très attaqués et ne portant pas de pustules. L'assise fibro-palissadique a toujours ses éléments gonflés et à membranes minces. L'épiderme interne n'est pas écrasé, et il n'a d'anormal que le diamètre exagéré de ses cellules. Certains pistils ont leurs deux épidermes soulevés par des vésicules conidiales; les pustules internes déchirent leur épiderme, et les conidies emplissent l'étroite cavité d'une poussière blanche. Certains fruits très anormaux montrent des stomates à la face interne. Les faisceaux libéro-ligneux sont étirés en largeur; ils ont leurs éléments un peu élargis, et possèdent parfois un cambium actif.

f) Diplotaxis tenuifolia. Les excellents matériaux dont nous nous sommes servis, nous ont été obligeamment communiqués par M. le Prof. Ed. Fischer. Ils proviennent de la colline de Tourbillon, à Sion. Ils ont été cueillis en 1895; on les a conservés depuis dans l'alcool. Il nous a donc été impossible d'y constater la présence de la coloration violette. La chlorophylle laissait encore suffisamment de traces verdâtres dans la corolle et les

étamines pour nous convaincre de la virescence primitive de ces organes. Ce sont particulièrement les fleurs et les axes d'inflorescences qui nous occuperont dans les lignes suivantes; les quelques feuilles peu déformées et les rares tiges mères avec petits gonflements locaux que nous avons eues entre les mains ne permettaient pas une étude complète de ces tissus.

Les inflorescences étudiées, au nombre d'une quinzaine, présentent toutes des aberrations remarquables. Tantôt l'axe florifère et ses dépendances florales ne sont aucunement inquiétés par le parasite, à l'exception cependant de une à trois fleurs monstrueuses qui seront décrites plus loin. Tantôt toute l'inflorescence est fortement hypertrophiée; son axe tourmenté, bosselé, gonflé, supporte d'énormes fleurs anormales et des boutons terminaux volumineux. Il va sans dire que dans Diplotaxis tenuifolia, aussi bien que dans les autres Crucifères déjà étudiées, on rencontre des aberrations intermédiaires à ces deux extrêmes.

Pour donner la valeur des hypertrophies florales, rappelons en quelques mots que la fleur normale a de dix à douze millimètres de long et de large dans ses plus grandes dimensions. Les pétales dépassent le calice, et le pédicelle est de deux à trois fois plus allongé que la fleur.

Les fleurs monstrueuses sont particulièrement intéressantes à cause de la grandeur qu'elles atteignent. Les sépales sont épais, bosselés, très élargis, tordus en forme de gouttière irrégulière, couverts de pustules de Cystopus. Ils ont une coloration brun foncé dans l'alcool, et leurs dimensions sont de quatre à six fois plus grandes que normalement. Les pétales sont volumineux, très élargis même à l'onglet, avec de nombreuses vésicules sur les deux faces; leur forme est irrégulière, tourmentée, tortueuse. Il est à remarquer qu'ils restent plus courts que les sépales, contrairement à ce que l'on observe dans une fleur saine. Les étamines ont un filet allongé et épaissi; leur anthère est desséchée, ou au contraire hypertrophiée et avec pustules. Le pistil partage ces dimensions exagérées. Il reste relativement mince dans son tiers inférieur; la partie supérieure est spatuliforme ou claviforme, bosselée et tortueuse, et supporte des vésicules conidiales. La symétrie florale est toujours bien conservée. Remarquons aussi que le pédicelle reste court, ramassé, mais qu'il s'épaissit fortement.

Il s'en faut de beaucoup que toutes les fleurs aient des dimensions aussi remarquables que dans le type qui vient d'être décrit. Trois ou quatre fleurs au plus par inflorescence semblent être les points d'élection de l'endophyte; elles possèdent une grandeur qui attire immédiatement le regard. Quant aux autres ensembles floraux, les hypertrophies, tout en restant très apparentes, y montrent des dimensions plus réduites. Les boutons terminaux sont grands et gonflés. Ils ne s'épanouissent pas. Il n'est pas rare de trouver parmi leur bouquet terminal un bouton plus grand que tous les autres, long de 18 à 20 mm, à moitié clos, dont les sépales sont épais et en capuchon, les pétales spatuliformes et peu épaissis, les étamines enflées mais peu déformées, et dont le pistil reste inclus. Il est probable que ces gros boutons donnent naissance aux fleurs

monstrueuses de grandes dimensions, ainsi qu'il ressort d'observations récentes que nous avons faites sur Sinapis arvensis en croissance, infecté par Cystopus.

L'anatomie de l'axe d'inflorescence normal est du type déjà décrit plusieurs fois dans les Crucifères précédentes: épiderme à cellules allongées dans le sens axial, plusieurs assises d'éléments corticaux, des faisceaux libéro-ligneux à cambium visible, un groupe de fibres sclérenchymateuses dorso-libériennes, une gaîne interfasciculaire à cellules épaissies, une moelle à gros éléments parenchymateux, pas de cambium interfasciculaire.

La tige florifère hypertrophiée a un diamètre double ou triple de celui de l'axe normal. L'irrégularité dans la disposition des faisceaux libéro-ligneux est frappante; on voit ces derniers réunis en une courbe fermée, et ondulée, s'avançant plus ou moins vers le centre, et à peine interrompue par le parenchyme à membranes minces de la gaîne très réduite. Les faisceaux ainsi étirés tangentiellement ont un cambium très actif. Les tubes du phloème et les vaisseaux du bois sont à peine élargis. La gaîne interfasciculaire se réduit à quelques files radiales de cellule parenchymateuses remplies de haustories. Certains faisceaux ont leurs fibres ligneuses transformées en un parenchyme à cloisons amincies, de sorte que les vaisseaux sont dispersés.

Certains axes d'inflorescences, moins attaqués, montrent le tissu cortical seul anormal, tandis que la gaîne et les fibres dorso-libériennes restent épaissies. Quelques tiges florifères affectées remarquablement, nous ont permis de constater la présence d'amidon dans l'endoderme et dans les cellules les plus internes de l'écorce.

L'anatomie des verticilles floraux de Diplotaxis tenuifolia infectée n'offre rien que nous n'ayons déjà constaté dans les Crucifères précédentes. Les sépales sont jusqu'à six fois plus épais que normalement. Tous les parenchymes sont hypertrophiés dans une large mesure et parcourus par de nombreux filets libéro-ligneux surnuméraires, avec cambium actif et vaisseaux dispersés; ils contiennent parfois des grains d'amidon. La base des sépales, dépourvue de pustules, nous a fourni à plusieurs reprises des oospores, tandis que la partie supérieure couverte de vésicules conidiales n'offre pas trace des organes sexuels du parasite. Tous les éléments cellulaires des pétales sont très gonflés et l'on voit dans le parenchyme des traces de chlorophylle que l'alcool a respectées et qui ne laissent aucun doute sur la virescence de l'organe frais. Les faisceaux surnuméraires sont aussi nombreux, et certaines cellules parenchymateuses sont amylifères. L'onglet contient souvent des oospores lorsqu'il ne porte pas de pustules. L'épiderme n'a pas de papilles et possède des stomates. Dans les étamines très hypertrophiées, le filet montre des traces chlorophylliennes; son faisceau est un peu étiré en largeur. L'anthère a souvent son assire spiralée sans bandes d'épaississement. Les loges polliniques sont très irrégulières, petites, écrasées, avec une masse brune formée des restes désorganisés des cellules polliniques. Tout l'intérieur de l'anthère est parenchymateux avec traces de chlorophylle, et les tissus sont parcourus par de petits filets libéro-ligneux surnuméraires. Cer-

taines étamines dont les anthères sont énormes montrent un parenchyme presque homogène; les sacs polliniques sont à peine marqués par des cellules un peu plus grandes que celles des tissus avoisinants.

Le jeune fruit normal comporte aussi, comme chez les Crucifères déjà décrites, un épiderme interne non stomatifère s'écrasant par la suite, et une assise fibro-palissadique à membranes minces, devenant très épaissies dans le fruit plus âgé.

Dans le pistil d'une fleur monstrueuse, l'épiderme interne n est pas écrasé; il est pourvu de nombreux stomates et soulevé par les conidiophores en de grandes pustules internes. Les ovules sont atrophiés. Les faisceaux libéro-ligneux se divisent en de nombreux filets avec cambium bien évident, et à vaisseaux isolés les uns des autres. La base du pistil peut contenir des oospores, lorsque les pustules n'existent qu'à la partie supérieure.

g) Raphanus Raphanistrum et Sinapis arvensis. Deux stations de ces Crucifères, l'une à Cormoret et l'autre au Torrent (près Cormoret) ont été découvertes par nous trop récemment pour en utiliser dans ce travail même les beaux et abondants matériaux. Trente-huit plants de Raphanus et plus de cent exemplaires de Sinapis nous ont permis de constater les plus grandes analogies entre les aberrations parasitaires de ces deux espèces et celles que nous avons déjà décrites.

Raphanus Raphanistrum est principalement affecté dans ses fleurs par l'endophyte, et ce dernier abrite de nombreuses oospores dans les verticilles floraux tous très hypertrophiés. Les pustules semblent préférer les feuilles et les tiges. Constatons en passant la virescence des pétales et étamines, l'amincissement des sclérenchymes, la production de faisceaux surnuméraires, la durée allongée de l'activité des cambiums, l'atrophie du pollen et des ovules.

Quant à Sinapis arvensis, c'est certainement cette Crucifère qui nous a jusqu'ici donné les aberrations les plus volumineuses. Il suffit de citer un exemple pour en donner la mesure. On sait que la fleur normale a des sépales ne dépassant guère 6 mm de long, et que les pétales, onglet compris, ont au plus 9 mm de longueur. Une inflórescence monstrueuse, portée par une plante pleine de vigueur, possédait deux fleurs entièrement vertes dont l'une avait $5^1/_2$ cm et l'autre 6 cm de diamètre et $4^1/_2$ cm de hauteur! Le diamètre de leur pédicelle oscillait entre 5 et 6 mm. Tous les verticilles floraux, d'aspect foliacé, avaient, à l'exception du calice, des dentelures sur les bords; les étamines portaient même des appendices marginaux ovuliformes; les carpelles foliacés et soudés seulement à la base, étaient bordés de renflements ovuliformes verdâtres. Les quatre tubercules nectariformes du réceptacle, de un tiers de millimètre dans la fleur normale, se présentaient sous forme de gros tubercules irréguliers de 4 à 6 mm d'épaisseur. Ajoutons les remarques suivantes pour terminer cet examen sommaire de Sinapis arvensis: les oospores sont nombreuses dans les tissus floraux; les pustules sont toutes bordées d'une zone violette qui a son siège dans l'assise sous-épidermique au plancher des vésicules; l'existence de rameaux-courts a été constatée sur de

nombreux exemplaires; les tissus de sclérenchyme sont parenchymateux; il existe de nombreux faisceaux surnuméraires dans la fleur; les cambiums ont une activité anormale.

3. Ensemble des aberrations.

Les études morphologiques et histologiques qui précèdent font ressortir la grande uniformité des aberrations dont Cystopus candidus est la cause. Nous ne saurions mieux faire, pour montrer leur généralité, que de condenser nos résultats en y incorporant ceux de Wakker.

Notre parasite provoque:

1° Des hypertrophies générales, avec courbures et déformations plus ou moins prononcées, dans toute la plante à l'exception de la racine et des ovules (à l'exception de rares ovules de Lepidium sativum contenant des oospores): Brassica nigra, Bras. Rapa, Sisymbrium officinale, Sisymb. pannonicum, Senebiera coronopus, Capsella bursa, Caps. Heegeri, Arabis alpina, Lepidium sativum, Diplotaxis tenuifolia, Sinapis arvensis, Raphanus Raphanistrum.

2° Une atrophie des ovules et du pollen dans toutes les espèces de Wakker ainsi que dans les nôtres. Cependant, Lepidium sativum a fourni de rares ovules hypertrophiés, verts et avec oospores. Les ovules restent petits, déprimés, et les réserves amylacées ne s'y accumulent pas. Les grains de pollen ne se développent pas, restent imparfaits, ou sont écrasés en une masse brune contre les parois des loges.

3° La formation de rameaux-courts. Ces rameaux restent rudimentaires chez la plante normale, ou ne se développent que si l'on coupe la partie supérieure de la plante, ou si cette partie vient à être brisée. On les a observés dans Caps. bursa, Caps. Heegeri, Lepid. sativum, Brassica Rapa, Sinapis arvensis. Wakker ne cite rien de semblable. Cependant, des exemplaires de Sisymb. officinale que nous avons récoltés à Bienne montrent de ces rameaux-courts.

4° La persistance des verticilles floraux. La fleur conserve sa symétrie et les organes caducs restent attachés à la base du pistil: dans toutes les espèces de Wakker ainsi que les nôtres.

5° Une coloration violette anormale dans presque toutes les cellules en contact avec les jeunes conidiophores ou oogones, coloration qui se trouve déjà dans la plante saine, mais seulement du côté de la plus forte radiation: Caps. bursa, Caps. Heegeri, Bras. Rapa, Lepid. sativum, Sinap. arvensis. Wakker n'observe rien de pareil; mais des exemplaires de Sisymb. officinale que nous avons cueillis à Berne et à Bienne montrent parfaitement le plancher des pustules, et même la zone qui les entoure, colorés en rouge-violacé dans les tiges, les feuilles et les calices. La plante normale possède la coloration surtout du côté de la radiation.

6° La formation anormale de chlorophylle dans des

organes qui n'en contiennent ordinairement que des traces ou pas du tout: corolle et androcée de toutes les espèces de Wakker et des nôtres; en plus, dans l'endoderme et dans les fibres dorso-libériennes amincies de Caps. Heegeri; dans les fibres ligneuses interfasciculaires amincies de la tige, l'assise fibro-palissadique amincie du fruit et certains ovules hypertrophiés de Lepid. sativum.

7° La production d'amidon dans des tissus qui n'en contiennent pas, ou seulement des traces, à l'état normal: Sisymb. officinale, dans le cambium interfasciculaire de la tige; Seneb. coronopus, dans le parenchyme foliaire; Caps. Heegeri, dans l'endoderme, l'écorce et la moelle des tiges très infectées; Diplot. tenuifolia, dans l'écorce et l'endoderme de l'axe florifère, et dans certains sépales et pétales.

8° Une division des cellules de certains tissus dont les éléments ne montrent une partition que dans leur jeunesse, ou dans certaines zones de cellules ne se divisant pas à l'état normal: généralement, sur toutes les parties gonflées, l'épiderme se divise activement avant de former les grosses cellules hypertrophiées; en plus, Lepid. sativum montre une active division dans l'endoderme, l'écorce et la moelle, dans les épidermes externe et interne du fruit, dans l'épiderme de certains ovules hypertrophiés.

9° Une augmentation des stomates, ou une production de stomates sur des organes qui n'en possèdent ordinairement pas: en général sur les parties hypertrophiées; en plus, corolle, filet, anthère, épiderme interne du fruit, dans Caps. bursa; épiderme interne du fruit à pustules internes, dans Caps. Heegeri; pétales, étamines, épiderme interne du fruit très anormal, épiderme de certains ovules hypertrophiés, dans Lepid. sativum; feuilles, pétales, étamines, épiderme interne du fruit très anormal, dans Bras. Rapa; pétales, étamines, épiderme interne du fruit, dans Diplotaxis tenuifolia.

10° La transformation des sclérenchymes en cellules à parois minces: Bras. nigra, dans la tige; Sisymb. pannonicum, fibres sous l'épiderme interne du fruit; Caps. bursa, faisceaux dorso-libériens, gaîne caulinaire et assise fibro-palissadique; Caps. Heegeri, faisceaux dorso-libériens, gaîne caulinaire; Arabis alpina, comme Caps. Heegeri; Lepid. sativum, Bras. Rapa, Diplot. tenuifolia, Sinapis arvensis, Raphan. Raphanistrum, comme Caps. bursa.

11° L'amincissement des parois de parenchymes épaissis ou gélatineux: Caps. bursa, collenchyme de la gaîne foliaire, ainsi que les cellules gélatineuses du tissu conducteur du tube pollinique dans le style; Diplot. tenuifolia, cellules gélatineuses du tissu conducteur.

12° Une légère hypertrophie du xylème et du phloème, et un étirement latéral du faisceau par des bandes radiales de parenchyme: Caps. bursa, Caps. Heegeri, Arabis alpina, Lepid. sativum, Bras. Rapa, Bras. nigra, Sisymb. pannonicum, Seneb. coronopus, Diplot. tenuifolia, Sinapis arvensis, Raphan. Raphanistrum.

13° La formation de faisceaux surnuméraires: Bras. nigra, fruit, calice, corolle, connectif; Sisymb. officinale et pannonicum, fruit; Seneb. coronopus, fruit; Caps. bursa, connectif, pétales, sépales, pistil, style; Lepid. sativum, calice, corolle, fruit; Bras. Rapa, calice, corolle, connectif, fruit; Diplot. tenuifolia, Sinapis arvensis et Raphan. Raphanistrum, calice, corolle, pistil et étamine.

14° Une durée allongée de l'activité du cambium fasciculaire: Bras. nigra, tige et étamine; Seneb. coronopus, tige; Sisymb. pannonicum, fruit; Caps. bursa, tige, nervure foliaire, pédicelle, calice, corolle, pistil, style; Caps. Heegeri, tige, feuille; Arabis alpina, tige, feuille; Lepid. sativum, tige et fruit; Bras. Rapa, tige et feuille; Diplot. tenuifolia, axe d'inflorescence et calice; Sinap. arvensis, tige et pédicelle; Raphan. Raphanistrum, tige.

15° Une durée allongée de l'activité du cambium interfasciculaire: Bras. nigra et Sisymb. officinale, tige; Caps. bursa, tige et pédicelle; Caps. Heegeri, Arabis alpina, Lepid. sativum et Bras. Rapa, tiges.

16° Des phénomènes régressifs et progressifs: Dans les espèces de Wakker et toutes les nôtres, une régression des pétales vers l'état sépaloïde, par une diminution des papilles, augmentation des stomates et virescence du parenchyme. Dans certaines de nos espèces, surtout Caps. bursa, Caps. Heegeri, Bras. Rapa et Sinap. arvensis, régression vers l'état foliacé, du filet et de l'anthère; retour des verticilles vers la disposition spiralée, dans Bras. Rapa; carpelles ouverts et bordés d'ovules au stade nucellaire, dans Caps. bursa et Sinap. arvensis.

Progression de certaines étamines vers l'état stigmatiforme et même vers le type carpellaire avec très jeunes ovules sur les bords, dans Caps. bursa et Sinap. arvensis; progression de certains fruits de Caps. Heegeri vers la forme plus évoluée de Caps. bursa, si l'on considère la première espèce, avec von Solms-Laubach, comme un stade jeune fixé de Caps. bursa.

2° Recherches sur la spécialisation du parasite.

1. Introduction.

Cystopus candidus se développe sur un si grand nombre de Crucifères, qu'on est en droit de se demander si ces formes diverses font bien partie d'une espèce unique.

Pour répondre à une question aussi complexe, il faudrait infecter toutes les Crucifères ayant été signalées comme portant Cystopus, avec les oospores et les conidies recueillies sur chacune d'elles en particuliers. On comprendra les difficultés d'une pareille expérimentation quand nous aurons exposé nos recherches.

De Bary[1]) est le seul botaniste, à notre connaissance, qui ait entrepris des infections d'une Crucifère au moyen de conidies cueillies sur une autre espèce, et encore n'a-t-il publié qu'une série d'expériences, et ne voulait-il prouver qu'une chose[2]): l'entrée du

1) Ann. des sc., Botan. Série 4, Tome XX.
2) loc. cit. p. 24.

parasite par les cotylédons de la plante nourricière. Exposons brièvement sa méthode et les résultats obtenus.

De Bary sème dans l'eau des conidies provenant de Caps. bursa pastoris, pour en obtenir des zoospores. Un certain nombre de jeunes plants de Lepid. sativum étalant leurs cotylédons, sont à disposition. En octobre, quelques-uns d'entre eux sont plongés pendant plusieurs heures dans l'eau contenant les zoospores, puis on les replante. D'autres ont leurs cotylédons aspergés de la même eau. D'autres enfin ne sont pas infectés et servent de contrôle. Les premiers montrent des pulviscules conidiales sur les cotylédons dix-neuf jours et sur les feuilles vingt-trois jours après l'infection. Les plants aspergés sur les cotylédons montrent des pustules dix-neuf à trente jours après. L'une de ces plantes réussit à passer l'hiver dans une chambre. De novembre en mars, ses cotylédons et ses deux premières feuilles se fanent; mais dans ce dernier mois, le végétal pousse trois nouvelles feuilles dont la supérieure seule, au commencement d'avril, montre un gonflement du pétiole avec des pustules. D'avril à mai, la tige s'allonge jusqu'à acquérir 15 cm de hauteur; elle est gonflée dans sa partie supérieure et porte des feuilles avec vésicules conidiales. Quant aux plants non infectés, ils passent l'hiver et fleurissent en avril sans trace du parasite.

Une seconde infection de jeunes plants de Lepidium est faite en mars, mais avec des zoospores provenant d'oospores, probablement cueillies sur Lepidium sativum, car De Bary néglige de l'indiquer, ce qui montre bien qu'il n'avait en vue que la preuve de l'entrée du parasite par les cotylédons. On arrose le terreau avec les zoospores, sans toucher aux cotylédons; les plantes se développent jusqu'au fruit sans trace de Cystopus. D'autres plants sont arrosés sur les cotylédons; treize à dix-sept jours après, on voit des pustules sur les cotylédons et les feuilles.

Après ces expériences, De Bary établit que les zoospores se fixent sur les stomates cotylédonaires, qu'elles perdent leurs deux cils, et qu'elles germent en un tube qui entre dans le parenchyme par les stomates.

Telles étaient les données sur lesquelles nous devions baser nos propres recherches.

2. Infections.

Une des plus grandes difficultés que nous ayons rencontrées dans nos expériences, c'est la germination régulière des conidies. Tandis que De Bary[1]) fait germer les zoosporanges avec beaucoup de facilité, nous nous sommes buté souvent à des insuccès. Et cependant, nous suivions exactement les recommandations du savant botaniste de Fribourg en Brisgau: prendre des conidies récemment formées, les répandre dans l'eau en ayant bien soin de les mouiller entièrement. De Bary avait remarqué que les conidies germent facilement après avoir conservé pendant plus d'un mois dans une chambre les Capsella qui les portent. D'autre part, Zalewski[2])

1) loc. cit p. 19 et 20.
2) Botanisch. Centralbl. 1883. No. 33.

obtient en été des zoospores en deux à trois heures, et en automne en un à quatre jours.

Fort des expériences de De Bary et Zalewski sur la production des zoospores, nous avions, à la fin de l'année 1901, entrepris des essais d'infection de diverses Crucifères, avec des conidies recueillies sur Capsella bursa et Arabis alpina. Mais les insuccès relatifs à la germination des zoosporanges nous ont fait abandonner nos recherches pour concentrer notre attention, au printemps 1902, sur les causes de ces insuccès.

A la fin d'avril, on voit déjà des plants de Capsella porter des pustules. Tout le mois de mai et le commencement de juin ont été consacrés à douze reprises différentes, à l'expérience suivante: choisir chaque fois un bel exemplaire de Caps. bursa couvert de vésicules conidiales; recueillir avec soin sur cet exemplaire, sans l'arracher, des conidies de pustules non ouvertes et encore en chapelet, et placer ces zoospores dans une petite bouteille contenant de l'eau de pluie (flacon no. 1); secouer avec précaution toute la plante sur un morceau de toile cirée noire et introduire la poussière ainsi obtenue dans un autre petit flacon avec eau de pluie (flacon no. 2); prendre un rameau de la même plante avec nombreuses pustules non ouvertes, le placer dans un linge humide pour l'observer (no. 3). Dans le flacon no. 1, les conidies restent en chapelet, le protoplasma devient granuleux, les Bactériacées se développent et le tout se décompose. Si les pustules fermées contiennent des chapelets se désarticulant facilement, le flacon no. 1 peut montrer un nombre minime de conidies germantes, mais la plus grande partie d'entre elles se désorganisent. Si l'on a introduit dans le flacon la poussière blanche des vésicules au moment où elles étaient prêtes à s'ouvrir, plus de la moitié des conidies se résout en zoospores. Dans le flacon no. 2, le tiers environ des zoosporanges produit des spores mobiles; les autres conidies deviennent granuleuses et se décomposent. Il nous est permis de penser que ces dernières sont relativement vieilles et qu'elles ont perdu leur faculté germinative, tandis que celles qui donnent des zoospores sont des conidies de pustules venant de s'ouvrir.

Le rameau no. 3 fournit une preuve en faveur de ce que nous avançons. Un jour après avoir été cueilli, on prend sur lui le contenu de trois vésicules non ouvertes; l'une est à peine gonflée, la seconde l'est moyennement, la troisième semble prête à éclater. On place séparément les contenus dans une goutte d'eau sur des couvre-objets en mouillant les conidies avec précaution. La jeune pustule garde ses zoosporanges en chapelets et ne donne aucun résultat. La seconde montre une petite fraction de ses spores vidées et avec le col de bouteille; les autres conidies se décomposent. La troisième a presque toutes ses conidies dissociées, et près du tiers des organes reproductifs se résout en zoospores. Le rameau no. 3 est encore conservé; presque toutes ses pustules s'ouvrent et donnent des spores qui germent en assez grand nombre. Deux semaines après, ce même rameau est flétri, desséché par places; les conidies qui en tombent ne donnent aucun résultat.

Ces expériences permettent de voir dans les zoosporanges des organes d'infection immédiate, exigeant pour germer d'être emportées au moment où les pustules s'ouvrent, et de tomber sur les jeunes plants de Crucifères humides de pluie ou de rosée.

Les nombreuses cultures de conidies que nos essais d'infections réclamaient, nous ont appris à ne pas attendre plus de trois jours sur l'éclosion des zoospores. Relevons ici, pour donner une idée de la variabilité du temps nécessaire à la formation des spores mobiles, quelques-unes des notes que nous avons prises au cours de nos expériences.

Le 28 mars 1902, à 11 h. du matin, des feuilles de Capsella bursa sont cueillies sur un plant ayant été infecté à l'automne précédent. Les conidies de quelques pustules bien gonflée sont mises, à 1 h. après midi, dans de l'eau dont la température est de 11° C environ. La petite écuelle de verre qui renferme l'eau infectée est déposée dans une chambre dont la température varie entre 10° et 17° C. On prélève d'heure en heure une goutte du liquide pour en examiner les conidies. A minuit, on ne remarque encore aucune zoospore. L'examen est repris le 29, à 7 h. du matin. De rares zoosporanges sont vides. A 8 h., l'éclosion est plus abondante. Entre 9 h. et 10 h., près de la moitié des conidies se résout en spores mobiles. De 10 h. à midi, cette activité se ralentit et s'épuise. Ainsi, dans cette observation, il faut environ 20 h. pour la formation des zoospores.

Le 29 mars, à 7 h. du soir, on plonge des conidies cueillies sur Capsella bursa dans l'eau d'un petit récipient qui est laissé en plein air sur le bord d'une fenêtre. Le 30, la neige tombe et la température s'abaisse à + 2° C. Le 31, à 11 h. du matin, par + 8° C., on peut observer un très petit nombre de conidies ayant formé des zoospores. Cette expérience a donc exigé environ 40 h. pour l'éclosion des spores mobiles.

Le 4 août à 6 h. du soir, on place dans l'eau des conidies récoltées sur Caps. bursa. On observe les premières zoospores le 5, à 7 h. du matin. A 10 h., ces dernières sont assez nombreuses. Le temps employé a donc été d'environ 13 heures.

Le 9 août, à $5^1/_2$ h. du soir, des zoosporanges cueillis sur Caps. bursa sont plongés dans l'eau. A $8^1/_2$ h., on peut observer les premières spores mobiles. A 10 h., elles sont nombreuses. Trois heures ont donc suffi à faire éclore les zoospores.

Le 11 juin, à 2 h. de l'après midi, on place dans l'eau des conidies récoltées sur Caps. bursa; à $3^1/_2$ h. les premières zoospores sont déjà formées. Entre quatre et cinq heures, plus de la moitié des conidies a produit les spores mobiles.

Outre la sélection des conidies, une autre difficulté de premier ordre se présente. C'est de choisir le moment propice à l'infection des jeunes plantes nourricières. A cause de la surveillance soutenue exigée par les nombreux pots à fleurs servant à nos expériences, à cause de la délicatesse des matériaux d'infection, et de la place considérable que demandent les séries de Crucifères, il nous a été impossible de recommencer souvent les mêmes infections. Un facteur

important était la coïncidence qui doit toujours exister entre la récolte du parasite et l'état de germination propice de la plante à infecter. C'est pour ces raisons que nous ne pouvons poser en ce moment aucune règle basée sur l'expérience, relative à l'optimum de réceptivité du parasite par le végétal nourricier. Mais ce que nous pouvons certainement avancer, c'est qu'il ne suffit pas dans toutes les Crucifères d'avoir des cotylédons bien étalés. La question de l'optimum de réceptivité demande plusieurs années de recherches. Comme nos infections tendaient plutôt à prouver l'unité d'espèce, ce n'est que très tard que nous nous sommes aperçu, après des insuccès nombreux, combien l'état du jeune plant influe sur la réussite de l'expérience. Ainsi nous avons vu que certains cotylédons, sortant de la gaîne, refusent l'entrée du parasite, tandis que lorsqu'ils sont bien étalés, ils sont susceptibles d'infections. Il nous a semblé que plusieurs de nos espèces qui avaient été infectées au moment ou les cotylédons étaient fanés peuvent recevoir l'endophyte par le jeune bourgeon foliaire déroulant ses feuilles. Mais nous ne pouvons encore rien affirmer à ce propos. Au reste, De Bary[1]) lui-même indique que Heliophila crithmifolia est apte à être infectée par les jeunes feuilles.

Nos recherches sur la spécialisation de Cystopus ont été assez heureuses. Elles ont commencées au mois de juin 1902 et ont continuées jusque dans l'arrière saison. Notre manière de procéder est la suivante. Une série de graines de Crucifères diverses est semée dans de grands pots à fleurs. Cinq ou six jours après, nous cherchons dans nos environs des matériaux d'infection avec pustules non déchirées. Les rameaux ainsi couverts de vésicules sont enveloppés en bouquet dans un linge humide. Cette manière de procéder est préférable à celle qui consiste à mettre les rameaux dans un vase. Les linges ainsi employés sont trempés et agités au moins deux fois par jour dans une eau abondante pour éviter les moisissures, et conserver une humidité très favorable au parasite. Les plantes ainsi enveloppées sont placées dans un endroit convenable pour éviter une évaporation trop rapide. Lorsque les cotylédons des végétaux à infecter sont étalés, on choisit dans les linges les rameaux couverts des pustules très gonflées et qui semblent vouloir éclater. Les conidies sont extraites avec un scalpel et on les fait tomber dans une petite écuelle de verre cylindrique et peu profonde; puis on ajoute de l'eau de source, de pluie ou de rosée, l'expérience nous ayant montré que les zoospores germent aussi bien dans l'une que dans l'autre. La couche liquide est de cinq à huit millimètres. Les conidies nagent sur l'eau, et il faut quelque précaution pour les mouiller. On prélève ensuite toutes les heures une goutte d'eau jusqu'à ce que le microscope révèle la présence des zoospores. Dès la formation de celles-ci, les jeunes plants sont préparés pour l'infection. A cet effet, on en déplante quelques-uns de chaque espèce à l'aide d'un scalpel en laissant un peu de terre autour de leurs jeunes racines. Les exemplaires de chaque Crucifère sont groupés en un petit faisceau dont

1) Voir la citation de Frank: Krankh. der Pflanz. Bd. II. p. 82 à 86.

toute la partie inférieure terreuse est enveloppée soigneusement d'un papier-filtre humide portant un numéro, le tout retenu par un fil de lin. Le buvard a un double emploi: il maintient l'humidité de l'humus et empêche celui-ci de tomber dans l'eau d'infection. Tous les groupes ainsi formés sont trempés, les cotylédons en bas, dans le liquide à zoospores, en les appuyant contre le bocal. Quelques heures après, on replante les exemplaires infectés, et chaque pot à fleur est muni d'un numéro. On choisit quelques exemplaires sains des mêmes espèces que l'on plante à part pour contrôler l'infection.

Avant d'entreprendre des recherches multiples, il nous a paru utile de répéter les expériences simples de De Bary, en les étendant cependant à d'autres espèces, et en variant les méthodes d'infection.

Toutes les expériences ont été faites à Corgémont dans l'année 1902, et au commencement de 1903, soit en plein air, soit dans une galerie vitrée spacieuse et bien éclairée[1]). On a noté au jour le jour l'apparition des pulviscules sur les jeunes végétaux infectés, et nos observations ont été résumées et condensées pour être décrites plus aisément. Quant aux graines de Crucifères dont nous avons eu besoin, elles provenaient principalement du Contrôle fédéral des semences de Zurich. Quelques semis ont été faits avec des graines des jardins botaniques de Paris et de Coimbres.

Nous avons groupé nos expériences d'après les Crucifères ayant livré les matériaux d'infection. Les diverses séries renferment des recherches semblables ou répétées à plusieurs reprises.

a) Infections avec conidies cueillies sur Capsella bursa.

1ère série. C'est Capsella bursa qui a été choisie comme hôte du parasite dans nos premières recherches, et c'est à cette Crucifère que nous nous sommes adressé pour des matériaux d'infection, vu sa fréquence dans nos environs. Les conidies provenant de pustules prêtes à s'ouvrir ou qui venaient de s'ouvrir, ont été les seules employées. Deux essais de culture du parasite ont été tentés. Le 9 juin, dix-sept jeunes plants de Capsella bursa étalent leurs cotylédons. Neuf d'entre eux sont déplantés, réunis en un faisceau, et infectés en les baignant la tête en bas pendant cinq heures dans de l'eau contenant des zoospores (no. 1). Cinq autres, après avoir été transplantés dans un pot à fleur spécial, sont aspergés de la même eau (no. 2). Enfin les trois derniers sont conservés sans infection pour servir de contrôle (no. 3). Quelques petites pustules se montrent déjà le 24 juin sur les cotylédons de deux plants no. 1 et un plant no. 2. Le 25, de nouvelles plantules portent des pulviscules: quatre plants no. 1 et deux no. 2. De même le 26: deux plants no. 1 et un plant no. 2. Deux plantules périssent avant de montrer des traces du parasite. Tous les exemplaires no. 3 croissent sans jamais porter de conidies. Vers le milieu de juillet, cinq plants no. 1 et deux plants no. 2 montrent quelques feuilles avec pustules. L'observation n'est pas poussée plus loin.

---

1) Nous nous faisons un devoir de présenter ici nos remerciements à M. le pasteur Egger, de Corgémont pour l'amabilité avec laquelle il a mis à notre disposition les locaux et le jardin nécessaires à nos expériences.

Le 20 juin, vingt-quatre plantules sont réparties en trois groupes de huit. Le premier est infecté par immersion (no. 4); le second est aspergé d'eau avec zoospores (no. 5); le troisième est laissé intact (no. 6). C'est le 12 juillet que les vésicules apparaissent. Le 15, on peut observer quatre plants no. 4 et deux plants no. 5 avec pustules très petites sur les cotylédons. Ce nombre n'augmente pas par la suite. Les exemplaires No. 6 croissent sans trace du parasite.

En résumé:

Plante infectée: Capsella bursa, dans des pots à fleurs à l'abri.
Par immersion: 17 plantules dont 12 avec résultat positif.
Par aspersion: 13 „ „ 6 „ „ „
Contrôle: 11 „ „ 11 „ „ négatif.

2[e] série. Il était intéressant d'entreprendre des expériences d'infections en pleine terre, en se plaçant autant que possible dans des conditions semblables à celles que l'on observe dans la nature. Quatre essais de culture du parasite ont été tentés sur Capsella bursa avec des zoosporanges cueillis sur cette même Crucifère.

Vers la mi-juin, par un temps couvert, dans une plate-bande de jardin où l'on a semé des graines de Capsella, plus de cent plantules, divisées en deux groupes, étalent leurs cotylédons. On secoue sur le premier groupe, après l'avoir arrosé abondamment d'eau de fontaine, un bouquet de Capsella dont les rameaux sont couverts de pustules; ces rameaux avaient été conservés pendant quatre jours dans un linge humide. Cette infection ayant été faite vers deux heures de l'après midi, on vaporise à plusieurs reprises, jusqu'à huit heures du soir, de l'eau de fontaine sur les jeunes plants. Les jours suivants, on arrose avec précaution. Quant au second groupe, il s'est aussi couvert de conidies; on en voit la poussière blanche sur le vert des plantules. Mais on a eu soin de le préserver d'eau. Ce deuxième groupe ne montre jamais aucune trace de pustules, si ce n'est sur deux plants voisins du premier groupe, et sans doute aspergés d'eau accidentellement. Il en est tout autrement des jeunes exemplaires arrosés avant l'infection. Douze jours après avoir répandu les conidies, de petites vésicules apparaissent sur quelques plantules. Chaque jour nous en montre de plus nombreuses. Divers petits Gastéropodes se mettent à ronger les pustules. On réussit à sauver vingt-sept plants infectés en les préservant pendant la nuit avec une caisse en bois. En août et septembre, les plantes ont une rosette basilaire vigoureuse dont plusieures feuilles portent des pulviscules.

Le 14 juin, deux pots à fleurs placés dans une galerie vitrée contiennent chacun une quinzaine de plantules. L'un d'eux est aspergé d'eau puis recouvert d'une petite gerbe de rameaux de Capsella bursa avec pustules dont on a d'abord secoué une partie des conidies sur les cotylédons. On arrose une fois par heure jusqu'au soir les jeunes plants et les rameaux. Le second pot ne reçoit qu'une fois par jour de l'eau sans avoir été recouvert de zoosporanges. Les premières pulviscules se remarquent le 30 juin sur quelques cotylédons du pot à fleur infecté. Le 10 juillet, on compte neuf plantules infectées. Le second pot ne montre pas trace du parasite.

En août, une infection en plein air est tentée par un temps pluvieux. Près de cent cinquante jeunes plants de Capsella bursa, séparés en deux groupes par un espace de 30 cm, étalent leurs cotylédons. C'est un vent d'ouest qui souffle. Après une pluie de plusieurs heures, on répand sur le groupe situé vers l'est, les conidies de rameaux conservés pendant trois jours dans un linge humide. En procédant ainsi, on évite autant que possible d'infecter les jeunes végétaux du groupe ouest. Douze jours après, de petites pustules se montrent sur plusieurs plants du groupe infecté. Les plants portant des vésicules augmentent en nombre et l'on en compte enfin environ une trentaine avec une infection manifeste. Dans le groupe d'ouest, un plant seulement possède quelques pulviscules. Il est permis d'admettre que, malgré les précautions prises, quelques conidies se sont déposées sur les cotylédons de cette plantule.

Le 31 juillet, une expérience semblable à la deuxième de cette série est entreprise sur de jeunes plants de Caps. bursa croissant dans deux pots à fleurs. Mais ici, les deux groupes de plantules sont recouverts d'une petite gerbe de rameaux avec pustules. L'un des pots est placé à la pluie qui ne cesse de tomber jusqu'au 3 août. L'autre est laissé dans une galerie vitrée; il reçoit une fois par jour de l'eau qui est versée dans la soucoupe, pour éviter d'asperger les rameaux couverts de pustules. Le 14 août, les premières pulviscules apparaissent dans le pot exposé à la pluie. Les plantules infectées augmentent en nombre jusque vers le 22 août. Plusieurs continuent à vivre et ont bientôt une petite rosette avec quelques feuilles portant des vésicules. Trois de ces plants sont conservés jusqu'en novembre; la rosette basilaire est bien étalée, et les feuilles avec pustules sont assez nombreuses. Près de la moitié des jeunes Capsella infectées, seize sur quarante, ne montrent aucune trace du parasite. Quant au pot abrité, tous ses exemplaires se développent sans Cystopus.

Dans les deux séries de recherches que nous avons relatées jusqu'ici, nous avons négligé, pour éviter des répétitions, de décrire les phases par lesquelles passent les jeunes végétaux infectés. Nous avons montré que douze jours au moins, à partir de la réception des zoospores, sont nécessaires pour faire apparaître les pulviscules sur les cotylédons. Dans Capsella bursa, les feuilles cotylédonaires sont de dimensions minimes. Quand le parasite se prépare à soulever l'épiderme de ces derniers organes, on aperçoit de petites taches d'un vert jaunâtre ayant de un tiers à un demi millimètre de diamètre. Ces taches passent au blanchâtre puis au blanc, et l'on a alors une pulviscule de moins de un millimètre. Le plus souvent, on ne remarque qu'une ou deux vésicules conidiales par cotylédon; rarement il peut s'en présenter jusqu'a cinq ou six. Elles semblent soulever de préférence l'épiderme supérieur. Plus tard, lorsque le bourgeon foliaire étale ses premières feuilles, quelques pustules se montrent sur la jeune rosette en formation. Ce n'est que lorsque cette dernière s'applique sur le sol en une couronne de plusieurs centimètres de diamètre que l'endophyte développe des pustules assez nombreuses, disséminées, de 1 à 2 mm de diamètre, et ayant mani-

festé leur apparition par une petite tache verdâtre, puis blanchâtre, qui passe bientôt au blanc brillant. Quant au développement ultérieur, nous ne l'avons suivi que dans trois plants hibernants. Dans l'un d'eux, la rosette a produit au printemps une tige avec quelques feuilles maladives. Les ramifications ont conservé un aspect ramassé, et les axes d'inflorescences, restés très courts, n'ont produit que des boutons atrophiés avec pustules nombreuses. Remarquons pour terminer que les vésicules peuvent faire défaut sur les cotylédons; elles n'apparaissent que sur les feuilles de la jeune rosette basilaire.

En résumé:

Plante infectée: Caps. bursa en plein air et à l'abri.

En plein air.	50 plants couverts de conidies; vaporisation et arrosage.	38 plants infectés.
	52 plants couverts de conidies; pas d'arrosage.	Résultat négatif, à l'exception de deux plants infectés accidentellement.
A l'abri.	16 plants couverts de conidies; vaporisation et arrosage.	9 plants infectés.
	14 idem; mais pas de vaporisation ni d'arrosage.	Résultat négatif.
Plein air.	70 plants à la pluie, puis couverts de conidies.	29 plants infectés.
	75 plants à la pluie, pas de conidies.	Résultat négatif, à l'exception d'un plant infecté accidentellement.
Plein air, et à l'abri.	40 plants à la pluie, puis couverts de conidies.	24 plants infectés.
	37 plants à l'abri, mais couverts de conidies.	Résultat négatif.

3e série. Deux pots à fleur contiennent des plantules de Caps. bursa (no. 1 et no. 2), et deux autres pots montrent de jeunes plants de Lepidium sativum (no. 3 et no. 4). Le 18 juin, les plants no. 1 et no. 3, réunis en fascicules, sont trempés pendant quelques heures dans de l'eau avec zoospores de conidies cueillies sur Caps. bursa. Les pots nos. 2 et 4 sont conservés intacts pour contrôler l'infection. Le 3 juillet, deux plantules no. 1 montrent des pustules sur les cotylédons. Le 7, on a un total de douze plants no. 1 avec pulviscules, sur dix-huit infectés. Plusieurs de ces végétaux se développent avec des vésicules sur les jeunes feuilles. Le 4 juillet, trois plants no. 3 montrent le parasite sur les cotylédons. Le 9 juillet, on a quatorze plants attaqués. Une semaine plus tard, quatre nouvelles plantules portent des vésicules seulement sur les feuilles. Toutes les autres restent saines. Les pots nos 2 et 4 ne montrent jamais de pulviscules. On choisit trois pieds de Capsella et trois de Lepidium infectés. Ces exemplaires sont bien développés, à cotylédons fanés. Ils sont transplantés en pleine terre. En septembre, une Capsella et deux Lepidium portent encore des vésicules sur diverses feuilles.

En résumé:

Plantes infectées: Capsella bursa et Lepidium sativum, infection par immersion.

Caps. bursa:	18 plants dont 12 avec résultat positif.
Lepid. sativum:	27 „ „ 18 „ „ „
Contrôles:	Résultats négatifs.

4e série. En juillet, trois essais d'infection à quelques jours d'intervalle, avec conidies récoltées sur Capsella bursa. Infection par immersion des espèces suivantes: Caps. bursa, Lepid. sativum, Iberis amara, Arabis alpina.

Infection du 21 juillet, pratiquée sur une dizaine de plantules de chaque végétal. Le 2 août, on voit déjà trois plants de Lepidium avec pustules sur les cotylédons. Du 3 au 7, quatre nouvelles plantules avec vésicules. Vers le milieu du mois, six des exemplaires précédents ont leurs jeunes feuilles infectées. Le 8 août, deux plants de Capsella soulèvent les premières pustules. Du 9 au 13, quatre nouvelles plantules infectées. Vers la fin du mois, sept exemplaires, dont cinq des précédents, avec taches conidiales sur les feuilles. Le 5 août, un plant d'Iberis a des vésicules sur les cotylédons. Du 6 au 8, on voit trois nouvelles plantules attaquées. Vers le milieu du mois, quelques exemplaires portent des pustules sur les feuilles.

L'infection du 22 juillet donne des résultats analogues. Jusque vers la fin d'août, plusieurs des plantules des trois espèces citées sont pourvues de pulviscules soit sur les cotylédons, soit sur les feuilles. Arabis alpina, après une croissance très lente, ne montre dans les derniers jours d'août qu'une feuille avec deux petites vésicules.

Dans l'essai du 26 juillet, Lepidium et Capsella seules donnent un résultat positif.

En résumé:

Plantes infectées: Capsella bursa, Lepidium sativum, Iberis amara, Arabis alpina, par immersion.

Caps. bursa:	Résultats	positifs	dans	trois	expériences.
Lepid. sativum:	„	„	„	trois	„
Iberis amara:	„	„	„	deux	„
Arabis alpina:	„	„	„	une	„

b) Infections avec conidies cueillies sur Capsella Heegeri.

5e série. Le 11 septembre, M. le Prof. Ed. Fischer nous communique trois pieds très ramifiés de Caps. Heegeri. Vésicules conidiales abondantes sur les axes fructifères. Quatre rameaux hypertrophiés sont choisis avec de belles pustules bien gonflées; ils sont placés pendant deux jours dans un linge humide. Ce laps de temps est suffisant pour permettre à des Caps. bursa et Lepid. sativum, destinés à une autre expérience, d'achever d'étaler leurs cotylédons. Les conidies sont placées dans l'eau; neuf heures après les zoospores sont assez nombreuses pour permettre l'infection de neuf plants de Caps. bursa et de sept plants de Lepid. sativum. Deux autres pots renferments des plantules non infectées de ces deux Crucifères. Dix-huit jours plus tard, trois Capsella montrent quelques pulviscules sur les cotylédons, et un Lepidium porte de rares pustules sur un cotylédon et sur une feuille. Peu de jours après, un nouveau Lepidium montre une tache jaunâtre sur une feuille; cette zone anormale restant stationnaire, la feuille est examinée au microscope qui révèle les hyphes et haustories du parasite dans les tissus. Les deux groupes-témoins restent sans traces de l'endophyte.

L'expérience ci-dessus ne peut être répétée à cause du manque de matériaux.

En résumé:

Plantes infectées: Caps. bursa, Lepid. sativum, par immersion.
Caps. bursa: 9 plants infectés, 3 avec résultat positif.
Lepid. sativum: 7 „ „ 2 „ „ „
Contrôles: Résultat négatif.

c) Infections avec conidies cueillies sur Lepidium sativum.

6e série. Elle comprend trois essais de culture du parasite sur Lepidium sativum. Conidies cueillies sur la même Crucifère.

Le 25 juin, de jeunes plants étalent leurs cotylédons. Treize d'entre eux sont infectés par immersion, pendant quatre heures; on les replante (no. 1). Neuf autres plantules sont transplantées dans un pot spécial et aspergées d'eau avec zoospores (no. 2). Douze autres sont bien mouillées au moyen d'un pulvérisateur puis sont couvertes de conidies sortant de pustules bien gonflées (no. 3). On conserve l'humidité des plants no. 3 au moyen de pulvérisations renouvelées six fois en quatre heures. Enfin, dix-sept autres plants sont laissés intacts (no. 4). Douze jours après, le 6 juillet au matin, un total de cinq plants des nos. 1, 2 et 3 ont déjà des pulviscules. Le 15 juillet, ces trois mêmes pots ont au total vingt et un plants avec vésicules dont seize montrent un peu plus tard des feuilles avec pustules. C'est le pot no. 3 qui offre le moins d'exemplaires malades, ce qui n'est pas étonnant puisque les pulvérisations successives ont fait ruisseler sur l'humus, avec les gouttes d'eau trop volumineuses, la plus grande partie de la poussière conidiale. Le pot à fleur no. 4 ne montre aucune trace de l'endophyte. Quelques plants nos. 1 et 2 sont conservés jusqu'à la fin d'août. Les tiges s'allongent en restant fluettes et s'orientent vers le vitrage de la galerie; elles portent quelques feuilles avec de rares pustules.

Dans les premiers jours de juillet, on sème en pleine terre des graines de Lepid. sativum. Le 12 juillet, les plantules sont assez avancées pour pratiquer l'infection. Elles sont en deux groupes séparés par un espace de huit centimètres, chaque groupe comptant une cinquantaine d'exemplaires serrés les uns contre les autres et occupant chacun un rectangle de près d'un décimètre carré de surface. Le groupe no. 1 est aspergé d'eau puis recouvert de conidies; on maintient l'humidité par des pulvérisations fréquentes pendant plusieurs heures. Le groupe no. 2 ne reçoit ni eau ni conidies. Les jours suivants, on arrose délicatement les deux groupes en ne versant le liquide que sur l'humus. Le 27, les premières plantules no. 1 montrent des pustules. Le 30, on compte un total de vingt-neuf plants infectés. Les premiers jours d'août étant pluvieux, de petits Gastéropodes détruisent en une nuit la plupart des plantules infectées. Quelques-unes de ces dernières peuvent être préservées par la suite des atteintes de ces animaux. Elles se développent bien, leurs feuilles portent des vésicules, la tige s'allonge en montrant des hypertrophies locales. Parmi les quarante-huit plants no. 2, un seul montre des pustules, par infection accidentelle. (Schluß folgt.)

Einige Bemerkungen über die Krebs- und die Gummikrankheit der Obstbäume.

Von **J. Brzeziński,**
Dozenten und Inspektor des Versuchsfeldes der Jagellonischen Universität zu Krakau.

Im Centralblatt vom 3. September 1903 äußert Dr. Rudolf Aderhold über eine von mir unter dem Titel „Le chancre des arbres, ses causes et ses symptômes" im Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie veröffentlichte Arbeit seine kritischen Ansichten. In diesem Artikel hat Dr. Aderhold es nicht für angezeigt gehalten, die Grundlagen, auf denen sich meine Arbeit aufbaut und auf die sich meine Ueberzeugung von der bakteriellen Ursache des Krebses der Obstbäume stützt, anzuführen, denn er habe, wie er meint, darüber bereits in der „Zeitschrift für Krebsforschung" geschrieben. Diese Abhandlung habe ich zu meinem Bedauern keine Gelegenheit gehabt, zu lesen, und ähnlich dürfte es auch vielen anderen ergangen sein. Aber für Dr. Aderhold scheint aus diesem Umstand die Berechtigung zu folgen, im erwähnten Artikel des Centralblattes die Sache so zu behandeln, als ob ich in meiner Arbeit gar keine oder wenigstens nur solche Beweise erbracht hätte, die keinen wissenschaftlichen Wert haben. Leider wird das Behandeln meiner Arbeit auch nicht durch den geringsten Versuch, die von mir angegebenen Tatsachen vorher zu prüfen, unterstützt. Meiner Ansicht nach, könnte aber nur auf diese Weise die Basis gewonnen werden zu einer ernsten, wissenschaftlichen Kritik. Die Unterlassung ist um so befremdender, als gewisse grundlegende Tatsachen überaus leicht festzustellen waren. Es sei hier z. B. die prinzipielle Behauptung erwähnt, daß der Krebs nicht, wie man bisher meinte, eine Krankheit der Rinde, sondern des Holzes, und daß die Krebswunde bloß eine Erscheinung der sehr tiefgehenden Zerstörung des Holzes ist, die selbst noch in einer Entfernung von 50 cm und mehr von der Wunde mit unbewaffnetem Auge feststellbar ist. Nichts leichter als irgend einen mit Krebs behafteten Ast zu durchschneiden und sorgfältig zu untersuchen.

Ich behauptete und behaupte auch hier, daß es keinen Krebs gebe, ohne die sehr charakteristische Zerstörung des Holzes im Inneren, die sich feststellen läßt mehr oder minder tief, immerhin aber unvergleichlich tiefer, als die Wirkungssphäre der bloß auf der Wundoberfläche gefundenen Pilze reichen kann, selbst wenn man auch die mehr als zweifelhafte Theorie von der Fernwirkung der Pilze im Holzgewebe gelten ließe[1]), welche sich Aderhold, in Ermangelung einer anderen Erklärung für das Verhalten der Pilze als Krankheitserreger, geschaffen hat. — Diese charakteristische Schädigung des Holzes, welche der Bildung einer jed-

1) Siehe: „Ueber Clasterosporium carpophilum Aderh. und Beziehungen desselben zum Gummiflusse des Steinobstes." (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. 1902. Heft 5.)

weden Krebswunde vorausgeht, findet sich in meiner Arbeit auf einigen photographischen Tafeln dargestellt. Sollte Dr. Aderhold sich überzeugen wollen, ob die Dinge in natura sich so verhielten, wie auf den Tafeln, so bin ich gern bereit, ihm derart erkrankte Aeste in unbeschränkter Anzahl zur Verfügung zu stellen.

Dr. Aderhold hat nicht nur es nicht versucht, mikroskopische Untersuchungen anzustellen, sondern er gab sich nicht einmal die Mühe, einen krebsigen Apfelbaumast auch nur mit bloßem Auge zu betrachten, obwohl der Nachweis eines Beobachtungsfehlers in diesem Punkte ganz unvergleichlich mehr Ueberzeugungskraft gehabt hätte, als all die Wiederholung der Behauptungen von einem eingebildeten Parasitismus der Nectria — Behauptungen, deren Grundlosigkeit in meiner Arbeit eben erwiesen wurde.

Diese Unlust des Kritikers zu einer selbst oberflächlichen Prüfung der wichtigsten Tatsachen, auf welchen meine Ansichten bezüglich der Ursache der Krebskranheit beruhen, läßt sich nur zu leicht erklären. Die Tatsache der bei der Krebskrankheit in der Tiefe vor sich gehenden Zerstörung des Holzes wegzuleugnen — ist nicht möglich; andererseits geht es aber auch nicht gut an, die Tatsache einmal zugegeben, bei der Behauptung stehen zu bleiben, daß eine in der Tiefe etwa 50 cm von der Wunde gelegene Zerstörung des Holzes durch einen Pilz verursacht wird, den bisher kein Mensch tiefer als einige Millimeter, und zwar in vollständig zerstörtem Gewebe beobachtet hat — wenn überdies die mikroskopische Untersuchung des zerstörten Holzgewebes stets Bakterien in den Zellen nachzuweisen im stande ist. Am bequemsten war es also, den empfindlichen Punkt mit Schweigen zu übergehen, wenn auch der Kritiker sich sagen mußte, daß eine Aufhellung dieses Punktes im Sinne seiner eigenen Anschauungen mit einem Schlag die ihm unsympathische Bakterientheorie umstürzen würde. Daß es Dr. Aderhold daran gelegen war, diese Theorie möglichst schnell umzustürzen, ist daraus zu ersehen, daß er dieselbe in einem Flugblatt [1]) schon zu einer Zeit bekämpfte, als er noch gar nicht wissen konnte, welche Beweise zu deren Unterstützung vorhanden seien. Daß man eine derartige Kritik weder unbefangen noch wissenschaftlich nennen kann, liegt auf der Hand.

Dr. Aderhold begeht aber nicht nur eine Unterlassungssünde, indem er Tatsachen verschweigt, die sich zur Erörterung geradezu aufwerfen, dem Kritiker aber allerdings unbequem sind, sondern er stellt die Sache vielfach so dar, daß der Leser sich ein ganz falsches Urteil über meine Arbeit bilden muß. Das ist hauptsächlich der Grund, weshalb ich mit einer Entgegnung hervortrete.

Es wird von Aderhold behauptet, daß ich die Arbeiten Goethes nicht berücksichtigt habe, obwohl ich dieselben ausdrücklich zitiere. Ich lasse hier wörtlich einen Absatz aus meiner Arbeit folgen, welcher gerade das Gegenteil beweist:

---

1) Siehe: Kaiserl. Gesundheitsamt. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. Flugblatt No. 17. Dezember 1902.

„En nous mettant, il y a 8 ans, à étudier le chancre des arbres, nous étions persuadés, d'après les résultats des recherches de Goethe et de Hartig, que le Nectria ditissima est la seule ou au moins la principale cause de cette maladie. Nos recherches portaient sur deux points. Nous désirions notamment établir, au moyen d'observations microscopiques, quelle est la relation intime entre les hyphes du champignon et les tissus des plaies qui commencent à souffrirent de l'atteinte du mal. D'autre part, nous voulions démontrer d'une manière expérimentale, comment s'effectue l'infection des tissus sains par les spores ou le mycelium du parasite.

Nous avons commencé par obtenir des cultures pures du Nectria, que nous employâmes ensuite à contaminer des jeunes pommiers cultivés en pots et tenus sous cloches. — Toutes nos recherches dans ce sens donnèrent des résultats négatifs. Au cours de nos observations microscopiques, nous trouvâmes, il est vrai, le mycelium du Nectria dans beaucoup de plaies chancreuses, mais uniquement et toujours dans le tissu déjà mort — donc pas dans cette région où le bois commence à devenir anormal, mais là seulement où la maladie a exercé son influence funeste depuis longtemps. Les inoculations non plus ne réussirent guère. Les spores avaient germé et formé dans l'air humide, sous cloche, un mycelium abondant; celui-ci cependant s'étalait seulement sur la surface de l'écorce, mais ne la pénetrait jamais et n'endommageait d'aucune manière les jeunes pousses du pommier. Le mycelium du Nectria ne détermina jamais une action destructive dans les tissus encore sains.

L'observation du Nectria dans la nature a confirmé en quelque sorte l'opinion que nous nous sommes faite, que ce champignon n'avait rien à voir dans la maladie du chancre. On peut facilement trouver le Nectria non seulement sur les plaies chancreuses, mais partout à la surface des arbres, où il y a un morceau de bois mort ou une écaille de vieille écorce à ronger. Il accompagne ainsi fidèlement le Fusicladium, en profitant de l'écorce morte, qui a été tuée par ce parasite, mais sans jamais lui-même s'attaquer aux tissus vivants et sans y provoquer de changements, qui rappelleraient en quoi que ce soit la maladie du chancre."

Es folgt daraus, daß ich die Arbeiten Goethes nicht nur berücksichtigt, sondern dieselben gründlich durchgearbeitet habe, was, nebenbei bemerkt, mich 2 Jahre kostete. Es sei noch erwähnt, daß ich Impfungen vornahm sowohl mit Gonidien wie auch mit mycelhaltigen Gelatinestückchen, auf der Rindenoberfläche und auf Wunden, auf Trieben, Blattstengeln und Blättern, und zwar unter Bedingungen, die für die Entwickelung des Pilzes am günstigsten waren. Die infizierten Stellen wurden nachträglich auf Durchschnitten untersucht — nicht in einem Falle konnte Uebergang der Mycelfäden in das lebende Gewebe, nirgends auch die geringste Schädigung der Pflanze beobachtet werden. Daß ich die natürliche Eintrocknung der Rinde an den Wundrändern nicht als Folge der Nectriawirkung betrachtete, versteht sich wohl von selbst. Im oben erwähnten Zitat hatte ich ausdrücklich hervorgehoben,

daß ich damals hinsichtlich der Richtigkeit der Anschauungen meiner Vorgänger noch keine Zweifel hegte; es handelte sich mir damals lediglich darum, zu erweisen, auf welchem Wege das Mycelium der Nectria in das Gewebe eindringe und daselbst die Krebsentartung errege.

Bei den Untersuchungen der Nectria in Reinkulturen stellte sich heraus, daß dieser Pilz auf künstlichem Nährboden nach einigen Wochen mit ungewöhnlicher Leichtigkeit große Piknidien bildet, die mit unbewaffnetem Auge sichtbar sind. Dieselben Pyknidien fanden sich auch in der Natur vor. Der Umstand, daß eine so wichtige Tatsache, wie das überaus leichte Entstehen einer bisher unbekannten Fruktifikationsform des Pilzes auf künstlichem sowohl wie auch auf natürlichem Nährboden unbemerkt blieb, gestattet wohl die Vermutung, daß diejenigen Forscher der Krebskrankheit, welche dieselbe jenem Pilze zuschreiben, dessen Wachstum in Reinkulturen nicht studierten und gar wenig Gewicht auf ein genaues Kennenlernen der Natur dieses vermeintlichen Parasiten legten.

Aus dem Vorhergesagten folgt jedenfalls, daß ich die Lebensbedingungen dieses Pilzes genauer studierte, als die bisherigen Forscher es getan haben. Wenn ich aber gegenüber den Beobachtungen Goethes und der übrigen Forscher mich kritisch verhielt, so muß ich gestehen, keinen Modus zu kennen, wie jene anders berücksichtigt werden könnten, wenn meine eigenen Anschauungen über die Natur der Krebskrankheit denjenigen Goethes diametral entgegengesetzt sind. Ob nach dem allen ich nicht bessere Gründe hatte, Goethes Ansichten zu verwerfen, als Dr. Aderhold zu seiner bisherigen Kritik der von mir aufgestellten bakteriellen Theorie des Baumkrebses, überlasse ich der unbefangenen Beurteilung des Lesers dieses Blattes.

Ferner behauptet Dr. Aderhold, daß ich bei meinen Impfungen mit Bakterien keine Krebswunden bekam. Wenn ich nun auch der Meinung bin, daß der Umstand des Erhaltens oder Nichterhaltens der Krebswunden von ganz geringer Bedeutung ist, da ich doch in meiner ganzen Arbeit den Beweis zu führen versuche, daß die äußeren Krebserscheinungen erst die Folge einer starken Entwickelung der Bakteriose in der Tiefe des Holzes sind, welche Entwickelung, unter Bedingungen die eine besonders gute Baumvegetation begünstigen, auch jahrelang ohne jedes äußere Symptom vor sich gehen kann, — so halte ich es doch für meine Pflicht, hier zu bemerken, daß ich auf p. 111 und 112 eine Beschreibung von einigen Krebswunden, die infolge der Bakterienimpfung entstanden waren, gegeben habe, welcher Beschreibung aber der verehrte Kritiker seine Beachtung zu schenken es nicht für nötig hielt.

Es darf hier nicht unerwähnt bleiben, daß ich im Laufe des Sommers 1903, also bereits nach dem Erscheinen meiner Abhandlung, das Entstehen großer, zweifellos krebsiger Wunden an den Impfstellen bei solchen Bäumen beobachten konnte, die vor nicht weniger als $4^1/_2$ Jahren von mir geimpft worden waren. Ein so langer Zeitabstand zwischen Impfung und Auftreten der charakteristischen Wunde hat nichts Befremdendes an sich, im Gegenteil,

es werden meine sonstigen Beobachtungen über Erscheinungsweise des Krebses in der Natur dadurch nur bestätigt.

Es liegt nicht in meiner Absicht, mit dem Artikel Dr. Aderholds, insoweit derselbe seine eigenen Beobachtungen betrifft, mich weiter zu beschäftigen. Eine Frage möchte ich mir aber erlauben: Wie kommt Dr. Aderhold zu seiner Annahme, daß der von ihm auf Steinobstbäumen — sei es natürlich wachsenden, sei es künstlich infizierten — gefundene Pilz die Nectria ditissima sei, wenn er, wie er selbst angibt, weder auf den einen noch auf den anderen irgend eine Fruktifikationsform gesehen hat. Warum sollte es nun gerade die Nectria ditissima und kein anderer Pilz sein? Und doch stellt Aderhold, ohne jeden weiteren Beweis, die Hypothese von einer sterilen Nectria ditissima auf — eine Hypothese, die mit der Natur dieses Pilzes, der überaus leicht und in den verschiedensten Lebensbedingungen nicht nur Gonidien, sondern auch Pyknidien und Perithecien bildet, gar nicht vereinbar ist.

In der Schilderung seiner Krebsstudien bemerkt Dr. Aderhold, daß er zur Infizierung nicht Reinkulturen des Pilzes verwandte, d. h. er verimpfte eben alles, was er im gegebenen Moment in den Zerfallsmassen der Krebswunde fand. Er drückt dabei die Vermutung aus, dies könnte wohl für mich ein Diskussionsthema werden. Dr. Aderhold ist im Irrtum: nach dem jetzigen Stande der Wissenschaft sind derartige Dinge, unserer Ansicht nach, nicht mehr diskutabel.

An Stelle der hier unzulässigen Diskussion will ich aber ein Beispiel anführen, zu welchen Resultaten die „Methode“, gar keine Kulturen anzulegen und unreine oder nicht vollständig reine Kulturen bei wissenschaftlichen Arbeiten anzuwenden, führen kann. Dieser Methode dürften wohl jetzt nur noch wenige Naturforscher huldigen, aber, wie es erscheint, huldigt ihr noch Dr. Aderhold. In seiner Arbeit über den Gummifluß des Steinobstes, welche Erkrankung von ihm der Wirkung des Pilzes Clasterosporium carpophilum zugeschrieben wird, zitiert Aderhold zahlreiche Experimente, die beweisen sollen, daß Einimpfung dieses Pilzes ein Ausfließen von Gummi zur Folge habe. Letzteres erzielte ich aber durch Anstecken einer Nadel, welche mit Gummibakterien infiziert war. Reinkulturen dieser Gummibakterien hatte ich im Jahre 1899 gewonnen, was ich im Mai 1902 in einer kurzen Notiz der Pariser Akademie der Wissenschaften vorlegte [1]).

Im Juli 1902 schickte ich Dr. Aderhold auf dessen Wunsch eine Kultur dieser Bakterien und bekam von ihm eine Kultur des Clasterosporium (Coryneum Beijerincki), dessen Verimpfung ihm so glänzende Resultate gegeben hatte. Da aber einige Bemerkungen in der Schrift Dr. Aderholds ein gewisses Mißtrauen bei mir erregten, so unterwarf ich die mir zugesandte Kultur der gewöhnlichen bakteriologischen Kontrolluntersuchung. Es fanden sich nun darin, außer jenem Pilze, noch folgende Mikroorganismen:

1) Brzeziński, J., Etiologie du chancre et de la gomme des arbres fruitiers. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des sciences Paris. 1902.)

1) Eine kokkenartige Bakterie, die in Tetraden sich gruppiert, sehr ähnlich derjenigen, die man in den Zellen der äußeren Rindenschicht der Bäume findet. Ich fand dieselbe oft in der Rinde der Birnbäume, bekam auch Kulturen, weitere Untersuchungen darüber habe ich aber nicht angestellt.

2) Gummibakterien, die auch anfingen Gummitropfen auf dem Nährboden zu bilden, was ihr charakteristisches Merkmal ist. Der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. Nowak verdanke ich Photographieen dieser Bakterienkolonieen mit ausgebildeten Gummitropfen.

Wodurch wurde nun der Gummifluß der von Aderhold geimpften Bäume verursacht, durch Clasterosporium carpophilum oder wohl durch Gummibakterien?

Dies Beispiel dürfte genügen, und es erklärt vollends, warum ich bezüglich der von Aderhold in seinem Artikel beschriebenen Impfungen nicht in Diskussion treten möchte, und warum ich mich darauf beschränke, zu bekennen, daß diese Art zu experimentieren mein Vertrauen nicht zu wecken vermag.

Auf die Schlußbemerkung Dr. Aderholds, daß meine Ansicht über die Krebskrankheit erst der Bestätigung durch neue Beweise bedarf, habe ich zu entgegnen, daß meines Erachtens die von mir erbrachten Beweise als ausreichend für jeden Unbefangenen erscheinen werden, wohl aber darf ich befürchten, daß die von Aderhold verlangten weiteren Beweise von ihm gerade so verworfen werden möchten — ohne vorherige Prüfung.

Während ich dies schreibe, fällt mir eine neue Bemerkung Dr. Aderholds über meine Gummibakterien ins Auge, die von ihm gelegentlich hingeworfen wurde in „Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft“. 1903. No. 4. p. 355. Eine erschöpfende, mit Beweismaterial versehene Arbeit über den Gummifluß ist von mir noch nicht im Druck erschienen und ich habe keine Aussicht, dieselbe früher als in einigen Jahren erscheinen lassen zu können, nachdem weitere Impfresultate vorliegen und meine Beobachtungen über den Gummifluß vollendet sein werden. Jetzt aber schon kann ich sagen, daß die vom Pfirsichbaum gewonnenen Gummibakterien, auf Pfirsichtriebe durch Nadelstich oder leichten Skalpelschnitt geimpft, durchweg nach 6—10 Tagen einen mehr oder minder reichlichen Gummifluß verursachten. Ueberall bildeten sich die für die Gummierkrankung charakteristischen Holzveränderungen aus, die mit bloßem Auge sichtbar waren. Gummibakterien, vom Pfirsichbaum und vom Kirschbaum gewonnen, auf Kirschentriebe geimpft, ergaben in einer gewissen Anzahl der Impfungen nach 1 oder 2 Wochen deutlichen Gummifluß, aber die Zahl solcher positiven Impfergebnisse war hier im ganzen verhältnismäßig geringer, was, meines Erachtens, der im allgemeinen größeren Widerstandsfähigkeit der Kirschbäume gegenüber der Gummikrankheit zuzuschreiben ist — dieser letzte Umstand ist genügend bekannt. Bei allen diesen Impfungen konnten aber die charakteristischen Veränderungen des Holzes festgestellt werden. In einigen Fällen, wo diese Impfungen durch Einschnitte in die Rinde ausgeführt wurden, zeigte sich

reichlicher Gummifluß erst 1 Jahr nach der Impfung, und zwar trotzdem die Impfstellen scheinbar ganz geheilt waren.

Wenn also Dr. Aderhold behauptet, daß seine Impfungen mit meinen Gummibakterien erfolglos waren, so ist dies mit meinen bisherigen Erfahrungen absolut unvereinbar. Ich kann dieser Behauptung keinen größeren Wert beimessen, als der anderen Behauptung des Kritikers, daß er im gummikranken Gewebe keine Bakterien gefunden hätte. Letzteres scheint mir um so mehr befremdend, als die Auffindung der Bakterien bei der Gummikrankheit eine überaus leichte Sache ist, schon aus dem Grunde, daß der Gummierkrankung nicht allein das Holz der Obstbäume, sondern auch die Früchte selbst anheimfallen, deren Gewebe, solange es nicht reif ist, sich ausgezeichnet zu mikroskopischen Untersuchungen eignet — Dr. Aderhold dürfte dann nicht lange nach Bakterien zu suchen haben. Die Untersuchung des Holzgewebes setzt allerdings größere technische Fertigkeit voraus.

Ich muß hinzufügen, daß die Art, in welcher Dr. Aderhold meine Anschauungen bekämpft, eine ganz ungewöhnliche ist. Dr. Aderhold erhebt keine prinzipiellen Einwände, weil ihm entweder noch nicht decisive Versuche zum Abschluß gekommen sind oder weil er diese Einwände irgendwo anders ausgesprochen habe; dies stört ihn aber keineswegs, in apodiktischer Weise meine Ansichten zu verurteilen. Der Umstand, daß Dr. Aderhold wegen meiner Anschauungen, welche von mir erschöpfend dargestellt und begründet wurden, in einer vor kaum einigen Monaten erschienenen Arbeit, schon zum vierten Male das Wort ergreift, macht ja diesen Anschauungen viel Ehre, was ich auch zu würdigen weiß; zu bedauern ist nur, daß dem verehrten Kritiker eine fieberhafte Hast nicht nur nicht gestattet, ernste Gegenbeweise zu sammeln und in ein gewisses Ganze zu fügen, sondern ihn zuweilen die Polemik beginnen läßt zu einer Zeit, wo ihm noch die Grundlagen meiner Anschauungen unbekannt sind. So setzt sich Aderhold der Gefahr aus, mit sich selbst in Widerspruch zu geraten. Wenn er z. B. von der Existenz der Krebsbakterien zum ersten Male im April 1902 erfährt und im Juli desselben Jahres Bakterien zu Versuchen zugeschickt erhält, so spricht er bereits im Dezember 1902 die apodiktische Meinung aus, daß die Bakterientheorie jeder Basis entbehre, während er im September 1903 wieder schreibt, er warte auf den Abschluß der Versuche, die mit meinen Bakterien angestellt worden seien.

Dies weicht unendlich weit davon ab, was wir gewöhnt sind, von wissenschaftlicher Kritik zu erwarten, deren Aufgabe es doch in der Regel ist, etwa aufgestellte Theorieen aufs sorgfältigste und genaueste zu prüfen, nicht aber durch das billige Mittel der Erweckung von Voreingenommenheiten sie als etwas Unbequemes a limine abzuweisen.

Zuletzt sei noch hervorgehoben, daß die Art, in welcher Dr. Aderhold seine eigenen Erfahrungen behandelt, nicht geeignet ist, das Vertrauen zu seinen Resultaten zu erwecken, die er bekommen könnte, wenn er die Experimente eines anderen wiederholte. Sind übrigens Experimente im stande, jemanden zu über-

zeugen, der sich beeilt hat, in der apodiktischen Weise sein Urteil abzugeben, noch bevor er die Experimente einer Prüfung unterworfen?

Deshalb ziehe ich es vor, in diesem Punkte das Urteil anderer Naturforscher abzuwarten, welche die Sache unbefangener behandeln mögen. Derweilen betrachte ich die Polemik mit Dr. Aderhold meinerseits als erledigt.

Dezember 1903.

Erwiderung.

Auf die vorstehenden Ausführungen würde ich, da ihr Verfasser sie geschrieben hat, ohne meine Kritik seiner Arbeit „Le chancre des arbres, ses causes et ses symptômes" gelesen zu haben, nicht erwidern, wenn sie nicht Irrtümer enthielten, deren Richtigstellung mir geboten erscheint. Ich werde mich auf deren Kennzeichnung beschränken.

Es wird in dem Aufsatze angegeben, daß ich in dem Flugblatte No. 17 der biologischen Abteilung die Theorie der bakteriellen Ursache des Krebses bekämpft und die apodiktische Meinung ausgesprochen hätte, daß sie jeder Basis entbehre. Das ist nicht zutreffend. Die Flugblätter, welche der Belehrung des großen Publikums dienen sollen, sind nicht dazu bestimmt, Theorien zu bekämpfen, namentlich solange keine Beweise für letztere vorliegen. Es ist daher in jenem Flugblatte auch nur ein Eingehen auf die Frage, und zwar in einem einzigen Satze, abgelehnt worden.

Ein ähnlicher Irrtum ist es, wenn der Verfasser meint, ich hätte die Berücksichtigung der Arbeiten Goethes bestritten. Eine solche Angabe meinerseits würde einen Widerspruch enthalten haben, da ich selbst hervorhebe, daß Goethes Arbeiten zitiert werden [1]). Ich habe eine solche Behauptung daher auch nicht aufgestellt, sondern nur hervorgehoben, daß die erfolgreichen Infektionsversuche Goethes (und anderer Autoren) mit Nectria ditissima nicht erwähnt werden. Das ist und bleibt richtig. Ob eine solche Erwähnung den eigenen, mißlungenen Versuchen des Verfassers gegenüber wünschenswert oder nötig gewesen wäre, darf ich dem Urteile des Lesers überlassen.

Es wird in dem Aufsatze ferner gesagt, ich hätte dem Verfasser vorgehalten, daß seine Bakterieninfektionen keine Krebswunden ergeben haben, während er doch auf p. 111 und 112 seiner Arbeit Beschreibungen künstlich erhaltener Krebswunden gegeben habe. Es sind an dieser Stelle allerdings ein Paar Wunden beschrieben; von ihnen sagt aber der Verfasser im unmittelbaren Anschluß an die Beschreibung: „Il est impossible d'affirmer aujourd'hui si ces plaies deviendront dans les années suivantes des plaies chancreuses typiques, caractérisées — comme nous le savons — par la destruction consécutive des bourrelets du tissu cicatriciel, ou si, au contraire, elles arriveront à se cicatriser normalement."

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 764.

Daraus geht wohl die Berechtigung, sie nicht als Krebswunden zu betrachten, zur Genüge hervor.

Was die angebliche Unreinheit der von mir erhaltenen Kulturen von Clasterosporium carpophilum anlangt, so konstatiere ich, daß ich, solange ich über Clasterosporium carpophilum arbeitete, die Kulturen dieses Pilzes selbstverständlich vielfach auf Reinheit kontrolliert habe. Ich habe sie sowohl auf die Platte gebracht als auch beim Studium des eigenartigen Verhaltens der Sporen wohl Hunderte von Malen mikroskopisch durchmustert, ohne Bakterien darin zu finden. Als mir Verfasser vorstehender Ausführungen im August 1903 mitteilte, daß die ihm gesandten Kulturen, die übrigens auf Reinkulturen Beijerincks zurückgehen (vergl. Aderhold in Arb. a. d. biol. Abt. am Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. II. 1902. p. 543), unrein gewesen seien, habe ich sofort die in meinem Besitz befindlichen Weiterzüchtungen derselben auf Platten mit Gelatine gebracht, auf welchen Brzezinskis Gummibakterien nachweislich gut gediehen, habe sie aber völlig rein gefunden. Da jedermann freisteht, zu prüfen, ob sich mit Reinkulturen von Clasterosporium die von mir beschriebenen Erscheinungen hervorrufen lassen oder nicht, brauche ich eine Erklärung für den Befund Brzezińskis nicht zu suchen. Erwähnen will ich aber, daß auch eine mir von diesem Autor gesandte Krebsbakterienkultur zweierlei Organismen enthielt.

Dahlem b. Steglitz, d. 8. Juni 1904.

Aderhold.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Aderhold, Erwiderung, p. 639.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber eine die Gelatine verflüssigende Milchsäurebakterie. p. 587.

Brzeziński, J., Einige Bemerkungen über die Krebs- und die Gummikrankheit der Obstbäume, p. 632.

Düggeli, Max, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen, p. 602.

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. (Suite), p. 614.

Hansen, Chr. Emil, Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten, p. 529.

Hastings, E. G., The action of various classes of bacteria on casein as shown by milk-agar plates, p. 590.

Marshall, Charles E., Additional work upon the associative action of Bacteria in the souring of milk, p. 593.

Mencl, Em., Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien, p. 559.

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. (Schluß), p. 539.

Nikolski, M., Ueber den Einfluß der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwickelung der Schimmelpilze, p. 554.

Rogers, L. A., Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. (Schluß.), p. 597.

Seifert, W. und **Reisch, R.**, Zur Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung, p. 574.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. Jena, den 3. September 1904. **No. 22/24.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Zur Kenntnis der Erblichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (Bacillus Berestnewi n. sp.).

Von Dr. **W. W. Lepeschkin**, St. Petersburg.

Mit 20 Figuren.

Zu Anfang des vorigen Jahres wurde von mir in dieser Zeitschrift[1]) eine Abhandlung veröffentlicht, in welcher eine spontane Umwandlung der einzelligen Formen von Schizosaccharomyces Pombe und melacei in die mehrzelligen und echt verzweigten

1) Abt. II. Bd. X. 1903. No. 5. p. 145.

beschrieben wurde. Da eine Abhängigkeit der Zweigbildung bei einigen Bakterienarten, die schon seit Jahren von mehreren Forschern beobachtet worden war, von bestimmten äußeren Einflüssen mit Sicherheit nicht festgestellt werden konnte, schien es mir nicht unmöglich zu sein, daß wir es auch hier mit einer ähnlichen spontanen Umwandlung zu tun haben. Um diese Voraussetzung zu prüfen, entschloß ich mich schon im Frühling 1902, eine der zweigbildenden Bakterien in dieser Beziehung eingehend zu untersuchen.

Daß die echt verzweigten Bakterienzellen wenigstens in einigen Fällen keine Involutionsformen sein können, wurde durch die Untersuchung von Arthur Meyer[1]) sehr wahrscheinlich gemacht. Derselbe fand nämlich, daß die kurzen Zweiganfänge der Zellen von Bacillus cohaerens nur in der Jugend, also bei reichlich vorhandener Nahrung, beobachtet werden können, welcher Umstand unbestritten auf den gesunden Zustand der verzweigten Zellen hindeutet. Doch ist es auch nach dem Erscheinen der Abhandlung A. Meyers unbekannt geblieben, ob die letzteren später zu Grunde gehen oder weiter wachsen und sich vermehren können. Der genannte Forscher konnte nämlich das Schicksal der Zellen mit Zweiganfängen nicht näher verfolgen und stellte nur fest, daß diese in älteren Kulturen nicht mehr aufzufinden waren. Wenn man auch mit A. Meyer darin einverstanden sein könnte, daß die Zweigbildung wesentlich durch innere Gründe veranlaßt zu werden scheint, so würde man doch nicht berechtigt sein, auf Grund der von ihm mitgeteilten Tatsachen es als bewiesen anzunehmen, daß die verzweigten Zellen keine degenerierenden Individuen sein können, die zum Tode bestimmt sind.

Mangelhafter in dieser Beziehung erscheinen mir die Tatsachen, welche andere Forscher berichten[2]). Ueber das Entstehen und weitere Schicksal der verzweigten Bakterien werden nur Vermutungen ausgesprochen.

Die oben ausgesprochene Voraussetzung über den Ursprung der verzweigten Bakterienformen würde gewiß nur dann bestehen können, wenn es bewiesen würde, daß die verzweigten Bakterienzellen weiter wachsen und sich vermehren können und daß die Zweigbildungsfähigkeit erblich ist. Meine erste Aufgabe war also, das Entstehen und weitere Schicksal der verzweigten Zellen an einer der zweigbildenden Bakterien in Feuchtkammern zu verfolgen.

Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Berestnew in Moskau bin ich seit Juni 1902 im Besitze einer zweigbildenden Bakterie. Da dieselbe noch von niemand beschrieben wurde, gestatte ich mir, hier zuerst ihre nähere Beschreibung zu bringen.

I. Fundort der untersuchten Bakterie.

Die von mir untersuchte Bakterie wurde von Dr. Berestnew aus dem Sputum eines an Pneumonie verstorbenen Kranken in Tiflis (Kaukasus) isoliert und alsdann auf verschiedenen Nähr-

1) Dieses Centralblatt. Abt. I. Bd. XXX. p. 49.
2) Literatur ist in der Abhandlung A. Meyers zu finden.

substraten kultiviert. Nach dem Namen ihres Erfinders möchte ich die Bakterie als Bacillus Berestnewi weiter bezeichnen.

II. Das morphologische Verhalten von Bacillus Berestnewi.

In frisches Nährmedium übertragen, treibt die Bacilluszelle, die 4—8 μ lang und ungefähr 1 μ dick ist, einen bis 60 μ langen (bisweilen auch noch längeren) Keimfaden, der sich bald in mehrere Zellen teilt. Die letzteren wachsen ihrerseits zu Keimfäden heran, wobei Krümmungen und Biegungen des Zellverbandes nicht ausgeschlossen sind (Fig. 1). Hand in Hand mit dem allmählichen Nahrungsverbrauch werden die Keimfäden immer kürzer, bis sie schließlich nur doppelt so lang werden, als die Stäbchen selbst (Fig. 2). Nachdem die Hauptmenge der Nährstoffe verzehrt ist und sich giftige Spaltprodukte im umgebenden Medium angehäuft haben, stellen die Stäbchen ihr Wachstum ein und zerfallen bald in Oidien, die das Aussehen von Kurzstäbchen (seltener Kokken) haben (Fig. 3). Der Zerfall in Oidien kann auch durch einfaches

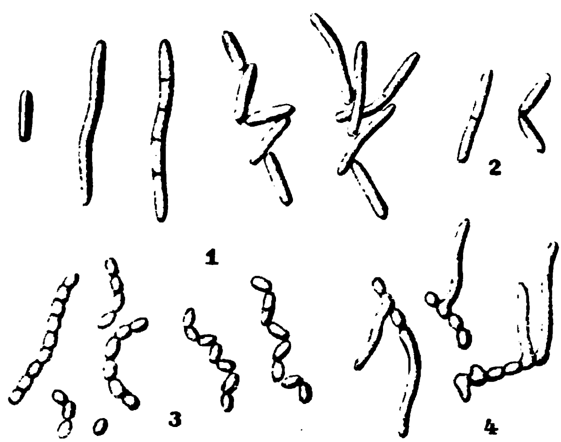


Fig. 1. Entwickelungscyklus von Bacillus Berestnewi.
Fig. 2. Vermehrung durch Zweiteilung bei schlechterer Ernährung.
Fig. 3. Oidienbildung.
Fig. 4. Keimung der Oidien.

Uebertragen der Bakterien in reines Wasser erzielt und durch Zusatz von Giften zum Nährsubstrat beschleunigt werden. Nach dem Abschnüren bleiben die Oidien gewöhnlich aneinander hängen; daher findet man in älteren Kulturen Ketten von Kurzstäbchen, die an die Verbände der Streptokokken erinnern.

Nach dem Uebertragen der Oidien in frisches Nährmedium keimen diese zu langen Fäden aus (Fig. 4), die bald septiert werden und in mehrere Stäbchen zerfallen. Damit ist der Entwickelungszyklus von Bacillus Berestnewi abgeschlossen.

Es sei mir gestattet, darauf aufmerksam zu machen, daß die Zellwände der beschriebenen Bakterie vom Zellinhalt (wegen ähnlicher Lichtbrechung) nur sehr schwierig zu unterscheiden sind.

Die in den Keimfäden und Zellen angelegten Querwände werden deshalb nur an den gefärbten Präparaten leicht erkannt.

III. Kulturelles Verhalten von Bacillus Berestnewi.

Die untersuchte Bakterie läßt sich auf allen üblichen Nährsubstraten leicht kultivieren. In Stichkulturen wächst sie oberflächlich; deshalb wurde sie ausschließlich in Strichkulturen gezüchtet. Besonders üppiges Wachstum der Bakterie wird auf Kartoffeln oder Nährgelatine erzielt, zu der man bis 1 Proz. Asparagin und 2 Proz. Dextrose zusetzt, wobei sich rosa bis orangegelber, nicht diffundierender Farbstoff bildet und der Bakterienüberzug faltig und körnig wird. Am Rande der Bakterienmasse sieht man dann am schönsten den für Bacillus Berestnewi sehr charakteristischen geriffelten Saum. Auf Fleischagar bildet die Bakterie fließende, glänzende, weiße Ueberzüge. Auf gewöhnlicher Nährgelatine, die nicht verflüssigt wird, bildet sich ein kompakterer, glänzender und etwa grauweiß gefärbter Ueberzug. Auf Gelatineplatten wächst die Bakterie in kreisrunden weißen Kolonieen, die aber 3—4 mm unter der freien Oberfläche schon nicht mehr entstehen können, weil die Bakterie streng aërob ist. Bouillon wird sehr schwach getrübt. Nach Verlauf von 3 Tagen (18° C) bildet sich auf ihr eine ziemlich faltige Haut.

IV. Physiologisches Verhalten.

Bacillus Berestnewi ist eine streng aërobe Bakterie. Das Wachstumsoptimum liegt ungefähr bei 25° C. Bei 35° wächst die Bakterie sehr langsam und bei 38° ist sie schon nicht mehr wachstumsfähig. Bei Zimmertemperatur wächst sie sehr üppig und sogar bei 3° C ist das Wachstum noch befriedigend. Bacillus B. ist ziemlich empfindlich gegen Temperaturextreme. Das Erhitzen auf 55° C tötet die Bakterie. Bei einer Abkühlung auf —20° wurde nach Verlauf von 4 Tagen bereits eine Abtötung vieler Stäbchen festgestellt.

Das Eintrocknen wird von den Stäbchen und Oidien nicht ertragen.

Im befeuchteten Zustande bleiben die Stäbchen nicht länger als 30—40 Tage (bei Zimmertemperatur) am Leben, die Oidien erweisen sich dagegen nach Verlauf von 280 Tagen noch als lebendig. Daher stellen die letzteren eine Vermehrungs- und zugleich auch Dauerform der Bakterie dar.

Die Bakterie entwickelt sich auf stark alkalischen sowie auch stark saueren Nährmedien sehr üppig. Die Reaktion des alkalischen Substrates wird allmählich sauer.

Nach den Versuchen von Dr. Berestnew ist die Bakterie nicht pathogen, was übrigens schon durch den Einfluß höherer Temperatur auf ihre Wachstumsenergie erklärt wird.

Die rosa Farbenbildung wird, wie Versuche zeigen, durch die Anwesenheit von Zucker (Dextrose) bedingt. Die Anwesenheit größerer Mengen stickstoffhaltiger Verbindungen (Asparagin bis 2 Proz., Lecithin, Peptone u. s. w.) bedingt dagegen die Bildung von orangegelber Farbe der Bakterienmasse. Die Erscheinung des

rosa Farbstoffes findet merkwürdigerweise erst nach dem vollständigen Zerfall der Stäbchen in Oidien statt.

Die Zusammensetzung des Nährsubstrates übt einen sehr merklichen Einfluß auf die Länge und Dicke der Stäbchen und Oidien von Bacillus Berestnewi. So ist z. B. die Stäbchen- und Oidiendicke der auf Fleischgelatine mit 1 Proz. Asparagin und 2 Proz. Dextrose gewachsenen Bakterie fast anderthalbmal so groß als die der Bakterie von Fleisch-Agarkultur. Die Länge der Keimfäden kann im ersteren Falle 80 μ erreichen, während dieselbe im letzteren Falle höchstens 40 μ beträgt. Unter wenig günstigen Bedingungen vermindert sich also die Fadenlänge und die Dicke der Bakterie; daß in einer Kultur sich die Fadenlänge allmählich vermindert, wurde übrigens schon früher mitgeteilt.

Das Wachstum der Bakterie sowie auch der Zerfall in Oidien wird durch Zusatz von osmotisch wirkenden Stoffen verzögert und bei genügendem Gehalt derselben im Kultursubstrat auch gänzlich aufgehoben. So war die Entwickelung der Bakterie auf Gelatine, zu der 12 Proz. Kochsalz zugesetzt wurde, nicht mehr möglich. Bei Zusatz von 10 Proz. NaCl wurde das Wachstum sehr langsam und die Oidienbildung schon aufgehoben. Bei Gehalt von 4 Proz. NaCl dagegen sind die beiden Vorgänge nur um 1—2 Tage verzögert. Der Zusatz von 2,7 Proz. Asparagin und mindestens 3 Proz. glycerin-phosphorsaurem Kali zur Nährgelatine bedingt gänzliches Ausbleiben der Oidienbildung, trotzdem das Wachstum der Bakterie sehr üppig stattfindet. Auf diese Weise läßt sich also die Bakterie zahllose Generationen hindurch ohne die Oidienbildung kultivieren.

Auf Grund der mitgeteilten Tatsachen gestatte ich mir folgende kurze Diagnose der untersuchten Bakterie zu bringen:

V. Kurze Diagnose von Bacillus Berestnewi.

Die Fleischpeptongelatine wird nicht verflüssigt. Unbeweglich. Keine Sporen. Kurze Fäden. Oidien. Nach Gram färbbar. Streng aërob. Rosa Farbstoff wird nur bei Gegenwart von Zucker gebildet. Orangegelber Farbstoff bei reichlichem Gehalt von stickstoffhaltigen Verbindungen. Nicht pathogen für Tiere. Auf Kartoffeln üppiges Wachstum (rosa Farbstoff). Auf Bouillon faltige Haut. Auf Platten kreisrunde weiße Kolonieen.

VI. Die Zweigbildung bei Bacillus Berestnewi.

In seiner Abhandlung berichtet A. Meyer (l. c. p. 52), daß die Zweigbildung bei Bacillus cohaerens, der schon lange in seinem Laboratorium kultiviert wurde, ganz plötzlich, ohne einen Bedingungswechsel auftrat. Die Kultur, in welcher die verzweigten Zellen zum ersten Male beobachtet wurden, benutzte A. Meyer bei seinen nachfolgenden Untersuchungen alsdann als Ausgangsmaterial für weitere Kulturen; in denselben wies nun Bacillus cohaerens öfters Verzweigungen auf, was früher nie beobachtet wurde. Im Gegensatz zu B. cohaerens besaß der von mir untersuchte Bacillus Berestnewi die Fähigkeit der

Zweigbildung bereits bei seiner Entdeckung. Die Erscheinung der verzweigten Zellen wurde also schon von Anfang der Züchtung in Kulturen beobachtet. Die erwähnte Fähigkeit des Bacillus Berestnewi ist dementsprechend viel älter als diese von Bacillus cohaerens. Man könnte aber daran kaum zweifeln, daß die zweigbildenden Fähigkeiten der beiden Bakterien gleichen Ursprungs sind und daß die Ergebnisse der Versuche, die ich an Bacillus Berestnewi gemacht habe, sich auch auf Bacillus cohaerens und wahrscheinlich auf andere zweigbildende Bakterien beziehen würden.

Wenden wir uns nun zur Morphologie der Zweige bei Bacillus Berestnewi. Aehnlich wie bei Bacillus cohaerens sind die Zweige auch hier nur kurz, sie stellen also nur Zweiganfänge dar, wie sie A. Meyer bezeichnen möchte. Gewöhnlich trägt das verzweigte Stäbchen nur einen einzigen Zweig, der bald an der Mitte, bald am Ende des Stäbchens meist senkrecht aufsitzt (s. Fig. 5). Oft kommt es auch vor, daß die nebeneinander liegenden Stäbchen desselben Fadens Zweige tragen, so daß man bei der Betrachtung der ungefärbten Bakterien denken könnte, daß mehrere Zweige auf

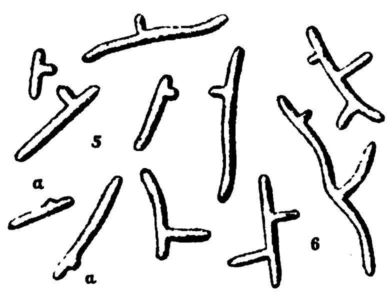


Fig. 5, 6.

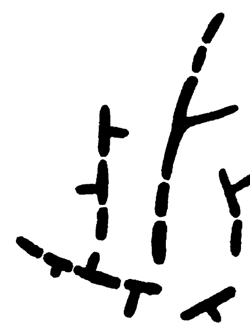


Fig. 7.

Fig. 5. Verzweigte Zellen von Bacillus Berestnewi.
Fig. 6. Verzweigte Fäden. Vergr. 2300.
Fig. 7. Verzweigte Zellen und Fäden von Bac. Berestnewi, mit Methylenblau gefärbt. Vergr. 3000.

einer einzigen langen Zelle aufsitzen. Das Mißverständnis wird aber an gut fixierten (mit Jodkalium) und gefärbten Präparaten aufgeklärt (Fig. 6, 7). Die Länge der Zweige übertrifft gewöhnlich nicht die Stäbchenlänge, am häufigsten ist sie aber viel kürzer und manchmal ist sie nur einer kleinen Knospe ähnlich (Fig 5a).

Die verzweigten Zellen beobachtet man nur in jungen Kulturen, so z. B. in den Röhrchenkulturen spätestens 30 Stunden nach der Aussaat. Mit dem Zerfall in Oidien verschwinden auch die verzweigten Zellen. Die Zeit des Auftretens der Zweige kommt also derjenigen des Bacillus cohaerens gleich.

Wenden wir uns jetzt dem weiteren Schicksal der verzweigten Zellen und der Ursache des Verschwindens derselben in älteren Kulturen zu.



Fig. 8.

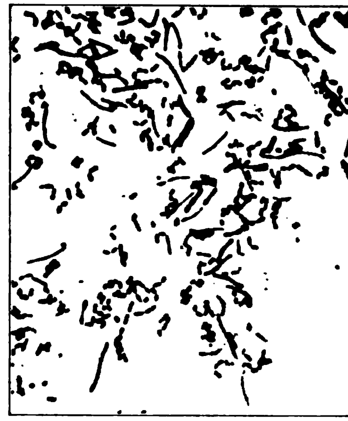


Fig. 9.

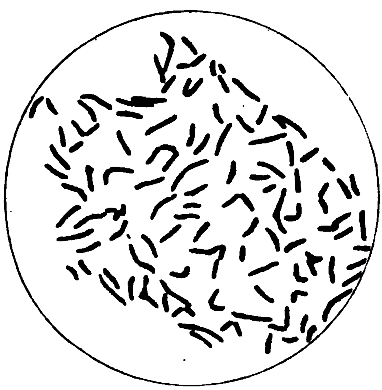


Fig. 10.

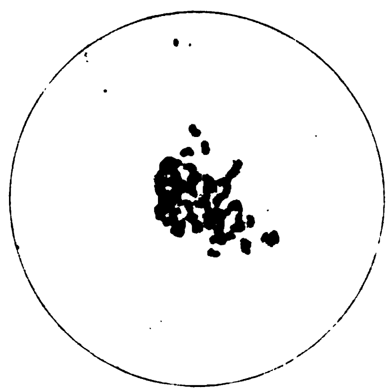


Fig. 11.

Fig. 8. Bacillus Berestnewi von der Fleischpetonagarkultur. Fadenbildung und Zweiteilung. *a* ein zwei verzweigte Zellen enthaltender Faden. Die verzweigten Zellen sind nebeneinander, was den Eindruck macht, als ob eine lange Zelle zwei Zweige hätte. Bei *b* hat schon der Zerfall in Oidien begonnen.

Fig. 9. Bakterien von einer $2^1/_2$ Tage alten Kultur auf Blutserum. Die Oidienbildung ist schon ziemlich weit vorgeschritten.

Fig. 10. Stäbchen von einer jungen Kultur auf Blutserum. Die Langfadenbildung hat schon mehr oder minder abgenommen.

Fig. 11. Oidien von einer 10 Tage alten Kultur auf Fleischpeptonagar.

Die Photographieen (Vergr. 1000) wurden von Dr. Berestnew gemacht, wofür ich demselben meinen besten Dank aussprechen möchte.

Die Fig. 12 stellt 6 hintereinander gezeichnete Stadien der Umwandlung der verzweigten Zelle in die einfachen Stäbchen dar, die im Verlauf von 4 Stunden bei 25° C im Bouillontropfen der Feuchtkammer stattfand. Die Figg. 13 und 14 stellen diesen Vorgang in Gelatinetropfen schematisch dar.

Aus der Fig. 12 ersieht man, daß sich die verzweigte Zelle nach

beiden Richtungen hin verlängert, wobei auch der Zweig selbst wächst. Es bildet sich ein verzweigter Keimfaden und derselbe zerfällt alsdann in die gewöhnlichen Zellen. Auf der Fig. 14, Stadium III, sind die Keimfäden bereits in die gewöhnlichen Zellen zerfallen. Der Vorgang, wie er auf der Fig. 12 dargestellt ist, habe ich am häufigsten beobachten können.

Durch die Beobachtung der Bakterie in Feuchtkammern wurde also festgestellt, daß die verzweigten Zellen weiter wachsen und sich vermehren können. Die letzteren können demgemäß keine degenerierenden Individuen darstellen, die zum Tode bestimmt sind.

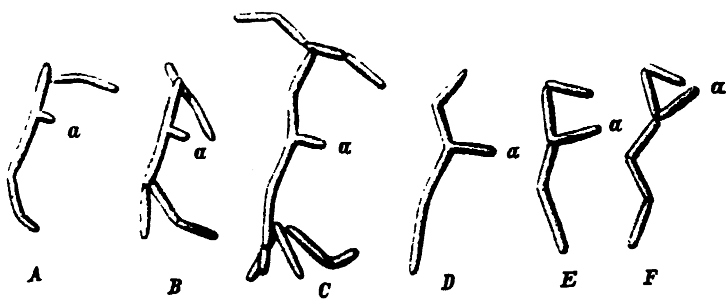


Fig. 12. Das Schicksal der Zweige; *a* der Zweig. Vergr. 2300.

Bevor ich nun die Frage beantworten werde, ob die Fähigkeit zur Zweigbildung erblich ist, möchte ich zuerst meine Versuche beschreiben, die entscheiden sollten, inwieweit die Zweigbildung von den äußeren Bedingungen beeinflußt wird.

Die Versuche, welche von Arthur Meyer zu demselben Zwecke angestellt wurden, bezogen sich hauptsächlich auf den Temperatureinfluß (s. seine Tabelle, p. 58). Der stoffliche Einfluß wurde also außer Acht gelassen. Da die Veränderung in der Zusammensetzung des Nährsubstrates allerlei morphologische Verschiedenheiten bei Bacillus Berestnewi hervorrufen kann (s. oben), schien es mir von besonderem Interesse, gerade den stofflichen Einfluß auf die Zweigbildung bei dieser Bakterie zu untersuchen. Ich wende mich jetzt zur Versuchsbeschreibung.

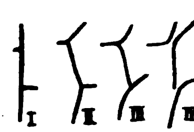


Fig. 13.

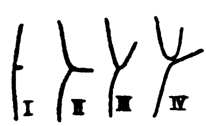


Fig. 14.

Fig. 13. Das Schicksal der Zweige.
Fig. 14. Das Schicksal der Zweige.

Zuerst möchte ich meine Versuche, die den Einfluß der Ernährungsqualität auf die Zweigbildung zeigen, anführen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen.

[Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. W. Palladin in der Frauenhochschule zu St. Petersburg.]

Von **Marie Leschtsch.**

Mit 3 Figuren.

Die Gärung und Atmung der Hefe erweckte seit langer Zeit das lebhafteste Interesse der Gelehrten; die Frage wurde zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht und es sind schon verschiedene Theorien darüber aufgestellt worden. Die Wissenschaft hat jedoch bezüglich dieser zwei Prozesse ihr entscheidendes Wort noch nicht gesprochen.

Die Untersuchungen Buchners[1]) haben vollständig erwiesen, daß die Gärung durch die Zymase der Hefezellen hervorgerufen wird, die den Zucker zu spalten selbst dann im stande ist, wenn die Hefe in dem sogenannten Zymin durch Aceton und Aether getötet ist.

Auf Vorschlag und unter Leitung des Herrn Prof. W. Palladin habe ich unter verschiedenen Bedingungen die Prozesse der Gärung und der Atmung verschiedener Hefearten untersucht.

In den unten beschriebenen Versuchen wurde die Hefe bald auf natürlicher Bierwürze, Pflaumendekokt (Glukose), bald auf künstlich

PO_4K_2H	0,3	Proz.
SO_4Mg	0,1	„
Pepton	1,0	„

mit Beimengung eines Zuckers hergestelltem Nährsubstrat kultiviert.

Die Versuche wurden auf ganz sterilen Substraten und immer mit junger, 1-tägiger Kultur gemacht, die letztere wurde auf folgende Weise hergestellt: 1 Tag vor dem Versuch wurde die Flüssigkeit der Kultur der in einem kleinen Erlenmeyerschen Kolben und auf entsprechendem Nährsubstrat aufgewachsenen Hefe vorsichtig abgegossen, die Kultur selbst aber mit einem kleinen Rest der Flüssigkeit in einen anderen, mit derselben Nährlösung versehenen Kolben ausgesät, auf diese Weise wurden die schädigenden Produkte des Stoffwechsels entfernt und die Kultur erneuert. Zum Versuch wurde die Hefekultur in einen großen Probiercylinder ausgesät und eine Rollkultur zubereitet, wie es Palladin[2]) beschrieben hat. Die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde mit den Pettenkoferschen Röhren ermittelt. Der Versuch dauerte einige Tage, und zwar in dem Sinne ununterbrochen, daß auch, wenn keine Analyse gemacht wurde, Luft oder Wasserstoff, je nach dem Gas, in dem die Kultur sich befand, fortwährend durchgeleitet wurde.

1) Buchner, E., Die Zymasegärung. 1903.

2) Palladin, W., Ueber normale und intramolekulare Atmung der 1-zelligen Alge Chlorothecium saccharophilum. (Diese Zeitschr. Abt. II. 1903. p. 146.)

Versuch 1.

Saccharomyces cerevisiae. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 15. Oktober, Ende 22. Oktober.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	15. Okt.	3 Std.	13,2 }	5,1	16—19°
"	15. "	2 "	12,4 }		19°
"	15. "	2 "	14,4	7,2	—
"	15. "	13½ "	—	—	—
"	16. "	1½ "	13	8,6	18°
"	16. "	2 "	21,6	10,8	19°
"	16. "	3 "	34,4	11,4	19°
"	16. "	2½ "	19,8	7,9	—
"	16. "	2 "	25,8	12,9	20°
"	16. "	15¼ "	—	—	—
"	17. "	3 "	16,4 }	7,1	17°
"	17. "	5 "	40,4 }		
"	17. "	5 "	35,6	7,12	17—19°
"	17. "	12½ "	—	—	
"	18. "	5 "	31,8	6,36	16½°
"	18. "	4 "	26,8	6,76	18°
"	18. "	14½ "	69,8	4,8	18—15°
"	19. "	8 "	36,6	4,57	15—17°
"	19. "	15½ "	60,6	3,9	17°
"	20. "	7½ "	30,2	4,02	17—18°
"	20. "	18¼ "	—	—	—
"	21. "	8 "	22,2	2,7	18—17°
"	21. "	21¼ "	44,2	2	—
"	22. "	17 "	28,8	1,7	—

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve *a*, Fig. 1.

Versuch 2.

Saccharomyces cerevisiae. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 15. Oktober, Ende 22. Oktober.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	15. Okt.	2½ Std.	10,6 }	5,1	19°
"	15. "	2 "	12,4 }		18°
"	15. "	13½ "	—	—	—
"	16. "	1½ "	9,2	6,1	18°
"	16. "	2 "	24,6	12,3	19°
"	16. "	3 "	32,4	10,7	19°
"	16. "	2½ "	22,25	10,4	—
"	16. "	2 "	17,8	8,9	20°
"	16. "	15¼ "	—	—	—
"	17. "	2½ "	16,6	6,6	—
Wasserstoff	17. "	¾ "	—	—	—
"	17. "	4 "	36,8	9,2	17°
"	17. "	3 "	27,4	9,1	18°
"	17. "	4 "	31,8	7,9	18°
"	17. "	9¼ "	64,8	7	18—16°
"	18. "	3½ "	23,4	6,7	15°
"	18. "	3½ "	23,2	6,6	18°
"	18. "	4 "	25,4	6,35	18—17½°
"	18. "	14½ "	—	—	—
"	19. "	4½ "	24,2	5,5	15—17°
"	19. "	18 "	51,8	2,8	17—18°
"	20. "	8 "	21,8	2,7	15—17°
"	20. "	19 "	29,4	1,5	—

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	21. Okt.	1 "	—	—	—
"	21. "	7 "	22,4	3,2	—
"	22. "	21 "	41	1,9	—
"	22. "	17$^1/_2$ "	32,2	1,8	—

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve *c* Fig. 1.

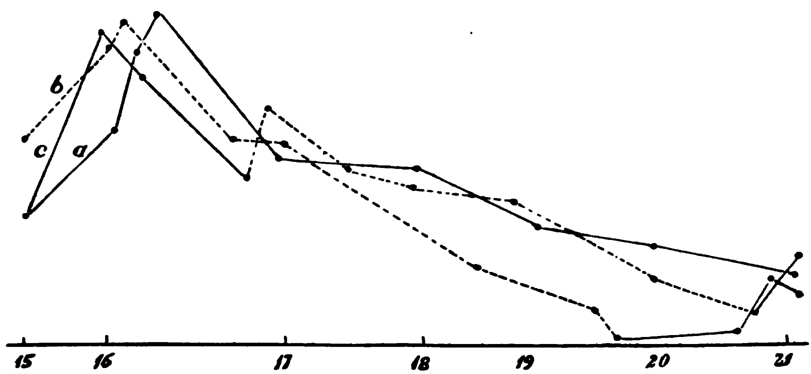


Fig. 1.

Versuch 3.

Saccharomyces cerevisiae. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 15. Oktober, Ende 22. Oktober.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Wasserstoff	15. Okt.	1$^1/_2$ Std.	8,4 }	7,9	19—18°
"	15. "	2 "	19,2 }		18—18$^1/_2$°
"	15. "	13$^1/_2$ "	—	—	—
"	16. "	1$^1/_2$ "	18,6 }		19°
"	16. "	2 "	22,4 }	12,1	19°
"	16. "	3 "	38,2 }		—
"	16. "	2 "	20	10	—
"	16. "	15$^1/_4$ "	—	—	—
"	17. "	3 "	24,4	8,1	17°
"	17. "	5 "	40	8	—
"	17. "	5 "	38,6	7,7	—
"	17. "	10$^1/_2$ "	64	6,1	17—15°
"	18. "	6 "	34,6	5,7	15—18°
"	18. "	5 "	25,6	5,1	—
"	18. "	14$^1/_2$ "	44,6	3,07	18—15°
"	19. "	22 "	28,6	1,3	15—18—15°
"	19. "	3 "	Spuren	Spuren	
Luft	20. "	24 "	10,45	0,43	—
"	21. "	7$^1/_2$ "	21,8	2,9	17°
"	21. "	21 "	37	1,8	—
"	22. "	17 "	28,6	1,7	—

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve *b*, Fig. 1.

Vergleicht man die dargestellten Kurven, so muß man schließen, daß die Gärung bei vollem Zutritt der Luft ebenso gut vor sich geht, wie in der Wasserstoffatmosphäre, mit dem einzigen Unterschiede jedoch, daß im ersten Fall neben der Gärung auch oxydierende Prozesse vor sich gehen, was besonders deutlich aus den Versuchen 2 und 3 ersichtlich ist, wo die Hefe nach langem Verbleiben im Wasserstoff bei neuem Hinzutritt der Luft etwas mehr CO_2 auslöst. Sein Maximum am 2. Tag erreichend, verläuft der Gärungsprozeß in Rollkulturen sehr schnell.

Versuch 4.

Schizosaccharomyces Pombe. Nährsubstrat: Pflaumendekokt. Anfang des Versuchs 4. Oktober, Ende 11. Oktober.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	4. Okt.	1½ Std.	14,4	9,6	15–16½ °
"	4. "	1½ "	19	12,7	16½–18 °
"	4. "	1 "	19,8	19,8	—
Wasserstoff	4. "	1 "	—	—	—
"	4. "	1½ "	22,6	17,7	18°
"	4. "	1½ "	18,8 }	14,0	18°
"	4. "	2 "	30,4 }		18½°
"	5. "	24 "	38	1,5	—
Luft	6. "	½ "	—	—	—
"	6. "	9 "	23,4	2,6	18–17°
"	6. "	12 "	32,8	2,7	17–16°
"	7. "	5 "	16,4	3,28	16–18°
"	7. "	8 "	30,2	3,75	18°
"	7. "	12 "	35,6	2,97	18–14°
"	8. "	5 "	15,6	3,1	14–19°
"	8. "	2 "	11,6 }	4,7	19°
"	8. "	4 "	16,8 }		19–18°
"	9. "	6 "	20,8 }	4,1	15–19°
"	9. "	3 "	15,6 }		19–20°
"	9. "	5 "	19,4	3,9	20–18°
"	9. "	7 "	23	3,3	18–17°
"	10. "	10 "	31,8	3,18	17–20°
"	10. "	4 "	16,4	4,1	20–19°
"	10. "	4 "	16	4	19–18°
"	10. "	10 "	27,6	2,76	18–15°
"	11. "	12 "	38,6	3,2	15–19–17°
"	11. "	12 "	30,2	2,52	—

Bei dem S. Pombe in Wasserstoff bemerkt man ein viel rascheres Sinken der entwickelten Kohlensäure als bei S. cerevisiae.

Versuch 5.

S. Pombe. Nährsubstrat: Bierwürze. Anfang des Versuchs 26. Oktober, Ende 1. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	26. Okt.	3 Std.	87,4	29,1	18°
„	26. „	2 „	72,8	36,4	18°
„	26. „	12 Std. 40 Min.	—	—	—
„	27. „	1½ Std.	78,2 }	50,8	18°
„	27. „	½ „	23,4 }		18°
„	27. „	1 „	—	—	—
„	27. „	½ „	32,4	64,8	18°
„	27. „	1½ „	—	—	—
„	27. „	½ „	42,6	95,2	18°
„	27. „	1 „	—	—	—
„	27. „	¼ „	38,8	155,2	19°
„	27. „	2¼ „	—	—	—
„	27. „	½ „	36,6	73,2	—
„	28. „	17 Std. 50 Min.	—	—	—
„	28. „	½ Std.	32,6	65,2	18°
„	28. „	1 „	—	—	—
„	28. „	½ „	29,6	59,2	18°
„	28. „	1½ „	—	—	—
„	28. „	1 „	43,2	43,2	18°
„	28. „	1 Std. 50 Min.	—	—	—
„	28. „	1 Std.	32,4	32,4	—
„	28. „	14¼ „	—	—	—
„	29. „	2 „	37 }	20,6	18°
„	29. „	1½ „	35 }		19°
„	29. „	1½ „	27,4 }	19,0	19°
„	29. „	1½ „	29,6 }		19—20°
„	29. „	21 „	—	—	—
„	30. „	2 „	37,6	18,8	19°
„	30. „	16 Std. 20 Min.	—	—	—
„	31. „	1 Std.	19,4	19,4	18°
„	31. „	50 Min.	—	—	—
„	31. „	2 Std.	29,6	14,8	19°
„	31. „	2½ „	—	—	—
„	31. „	1½ „	22,8	15,2	19°
„	31. „	18 „	—	—	—
„	1. Nov.	2 „	21,4	10,7	19°
„	1. „	¾ „	—	—	—
„	1. „	2 „	23	11,5	19°

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve *a*, Fig. 2.

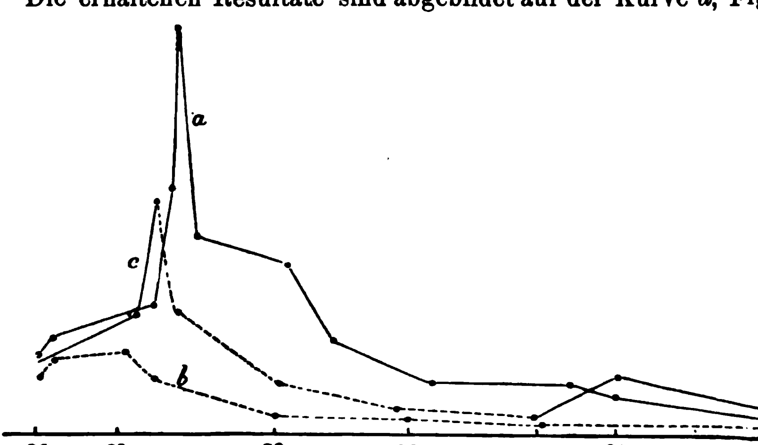


Fig. 2.

Versuch 6.

S. Pombe. Nährsubstrat: Bierwürze. Anfang des Versuchs 26. Oktober, Ende 1. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	26. Okt.	1 Std.	26,2	26,2	18°
„	26. „	3 „	90,2	30,06	18°
„	26. „	2 „	65,6	32,8	18°
„	26. „	12 3/4 „	—	—	—
„	27. „	1 1/2 „	66,8	44,5	18°
„	27. „	1/2 „	24,4	48,8	18°
„	27. „	1 „	—	—	—
„	27. „	1/2 „	24,8	49,6	18 1/2°
„	27. „	1 1/2 „	—	—	—
„	27. „	1/2 „	45	90	—
Wasserstoff	27. „	1 „	—	—	—
„	27. „	1/2 „	32,2	64,4	—
„	27. „	2 „	—	—	—
„	27. „	1/2 „	24,4	48,8	19 1/2°
„	27. „	19 1/2 „	—	—	—
„	28. „	1 „	20,2	20,2	18°
„	28. „	1 „	—	—	—
„	28. „	1 „	15,4	15,4	18°
„	28. „	1 Std. 50 Min.	—	—	—
„	28. „	1 Std.	22	22	18°
„	28. „	14 1/4 „	—	—	—
„	29. „	3 „	26,8	8,9	18°
„	29. „	1/2 „	—	—	—
„	29. „	3 „	23,6	7,8	19—20°
„	29. „	1 1/2 „	10,2	6,8	20°
„	29. „	16 Std. 55 Min.	—	—	—
„	30. „	4 1/2 Std.	23,8	5,3	17 1/2—19°
Luft	30. „	3 1/2 „	26,6	7,6	19°
„	30. „	15 „	—	—	—
„	31. „	1 „	23,4	23,4	18°
„	31. „	55 Min.	—	—	—
„	31. „	2 Std.	24,4	12,2	19°
„	31. „	2 1/2 „	—	—	—
„	31. „	1 1/2 „	16,8	11,2	—
„	31. „	18 „	—	—	—
„	1. Nov.	2 „	28,8	14,4	19°
„	1. „	1/2 „	—	—	—
„	1. „	2 „	26,6	13,3	19°

Die gewonnenen Ergebnisse sind auf der Kurve *c*, Fig. 2, abgebildet.

(Siehe Versuch 7 p. 655.)

Die gewonnenen Ergebnisse sind auf der Kurve *b*, Fig. 2, dargestellt.

2 Heferassen, S. Pombe und S. cerevisiae, werden also verschieden beeinflußt, je nachdem sie in einem Wasserstoff-, oder in einem Luftraum leben. Die Versuche 5, 6 und 7 machen es wahrscheinlich, daß unter den angegebenen Bedingungen neben der Gärung auch das Atmen vor sich geht.

In den Versuchen mit dem Saccharomyces cerevisiae wurde durch die Pettenkoferschen Röhre immer Alkohol ge-

Versuch 7.

S. Pombe. Nährsubstrat: Bierwürze. Anfang des Versuchs 26. Oktober, Ende 2. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std.	Temperatur
Wasserstoff	26. Okt.	4 Std.	88	22	18°
"	26. "	2 "	58	29	18°
"	26. "	12Std. 35Min.	—	—	—
"	27. "	$1^1/_2$ Std.	46	30,6	18°
"	27. "	$1^1/_2$ "	32,2	21,5	18°
"	27. "	2 "	41,6	20,8	18°
"	27. "	$1^1/_2$ "	32	21,3	18°
"	27. "	$2^1/_2$ "	43,4	17,3	19°
"	27. "	18Std. 20Min.	—	—	—
"	28. "	$3^1/_2$ Std.	29,4	8,4	18°
"	28. "	$4^1/_2$ "	42,2	7,4	—
"	28. "	13Std. 35Min.	—	—	—
"	29. "	5 Std.	24,2	4,8	18—19°
"	29. "	3 "	14,8	4,9	20°
"	29. "	16Std. 55Min.	—	—	—
"	30. "	8 Std.	23,6	2,9	$17^1/_2$—18°
"	30. "	15 "	—	—	—
"	31. "	8 "	20,8	2,6	18—19°
"	31. "	17Std. 55Min.	—	—	—
"	1. Nov.	9 Std.	19,4	2,1	19—18°
"	2. "		Spuren	Spuren	

trieben, was schon nach dem Geruch leicht zu bemerken war; in den Versuchen mit S. Pombe konnte dies nicht beobachtet werden, so daß, wenn der Alkohol sich auch entwickelte, dies nicht im großen Umfange geschah, und es ist anzunehmen, daß er ganz oder fast ganz in der Nährlösung zurückblieb.

Versuch 8.

S. Pombe. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9 Proz. Raffinose. Anfang des Versuchs 15. November, Ende 20. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	15. Nov.	5 Std.	17,2	3,4	13—17°
"	15. "	12Std. 21Min.	—	—	—
"	16. "	4 " 35 "	20,2	4,4	$19^1/_2$°
"	16. "	$1^1/_2$ Std.	7,8	5,2	19°
"	16. "	15 "	—	—	—
"	17. "	8 "	25,2	3,15	18°
"	17. "	4 "	15,2	3,8	$18^1/_2$—17°
"	17. "	$12^1/_2$ "	—	—	—
"	18. "	6 "	18,2	3,03	18°
"	18. "	26Std. 50Min.	—	—	—
"	20. "	14 " 10 "	28,2	1,9	18°
"	20. "	$8^1/_2$ Std.	16,8	1,9	18°

Versuch 9.

S. Pombe. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9 Proz. Raffinose. Anfang des Versuchs 15. November, Ende 20. November.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	15. Nov.	5 Std.	12,8	2,5	13—17°
„	15. „	16 Std. 5 Min.	39,6	2,46	17—20°
„	16. „	2 „ 55 „	11,4	3,9	20—19°
Wasserstoff	16. „	1½ Std.	7,8	5,2	19°
„	16. „	15 „	45,2	3	19—17°
„	17. „	4½ „	16,8	3,7	19°
Luft	17. „	3½ „	18,2	5,2	18°
„	17. „	4 „	16,4	4,1	18½—17°
„	17. „	12½ „	—	—	—
„	18. „	6 „	19,4	3,2	18°
Wasserstoff	18. „	17¼ „	22,4	1,3	18—16°
Luft	19. „	1 Std. 5 Min.	—	—	—
„	19. „	6 „ 25 „	21,6	3,3	18½—19°
„	19. „	2 Std.	7	3,5	18½°
„	19. „	14 „	31,6	2,2	18½—16°
„	20. „	1 „	—	—	—
„	20. „	8½ „	20	2,3	18°

Versuch 10.

S. Pombe. Künstlich hergestelltes Nährsubstrat + 9 Proz. Raffinose. Anfang des Versuchs 30. Dezember, Ende 2. Januar.

Gas	Datum	Dauer des Versuchs	Menge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Std. in mg	Temperatur
Luft	30. Dez.	4 Std.	16,8	4,2	19—20½°
„	30. „	4½ „	19,8	4,4	20—19°
„	30. „	2 „	10,2	5,1	19—20°
„	30. „	13 „	—	—	—
„	31. „	6 „	16,8	2,8	17°
„	31. „	2¾ „	11,2	4,1	17°
„	31. „	17¼ „	—	—	—
„	1. Jan.	3½ „	10,2	2,9	17—18°
„	1. „	4 „	7,4	1,85	18°
„	1. „	16½ „	—	—	—
„	2. „	7½ „	16,8	2,2	16—19°

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwickelung der Schimmelpilze.

Von **M. Nikolski,** Warschau.

Mit 22 Figuren.

(Schluß.)

Die Aussaat wurde immer mittels eines Platinnadelöhrs von der festen Kultur des Amylomyces β (Gelatinewürze) vorsichtig ausgeführt.

Alle Versuche wurden bei einer beständigen Temperatur von 30° im Thermostaten ausgeführt, wobei von Zeit zu Zeit Luft durch die Kolben mittels einer Luftpumpe zugeführt wurde.

Nach dem Verlaufe einer gewissen Zeit wurde die Kulturflüssigkeit auf einem abgewogenen Filter filtriert, die erhaltene Schimmelhaut wurde mit destilliertem Wasser ausgespült und samt dem Filter bei einer Temperatur von 80—90° getrocknet und dann gewogen. Das Filtrat wurde bis zu einer bestimmten Menge (750 ccm) mit destilliertem Wasser verdünnt.

200 ccm von dieser Menge wurden, nachdem sie in einen Glaskolben (Fassungsraum 500 ccm) gebracht worden waren, bis ca. 450 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt und dann mit etwas konzentrierter Salzsäure (5 ccm)[1]) 1 Stunde lang in einem kochenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Kolben bis zu 500 ccm mit destilliertem Wasser gefüllt und die Zuckerquantität in der vorhandenen Lösung bestimmt. Diese Bestimmungen wurden nach der gewichtsanalytischen Methode von Meissl-Allihn[2]) ausgeführt. Für die Berechnung der Zuckerquantitäten aber nach dem erhaltenen Kupfergewicht habe ich die Tabellen von Kjeldahl benutzt (Tabellen für Bestimmung der einzelnen Zuckerarten mit Fehlingscher Lösung nach Kjeldahl)[3]).

Meissl-Allihns Verfahren ist von dem Kjeldahls etwas verschieden und die Zahlenangaben des letzteren für die Bestimmung nach Allihn lassen sich nicht verwenden. Doch, da ich nur relative Ergebnisse beabsichtigte, kam nichts weiteres in Betracht.

III.

I. Versuch (Saccharose).

7 Kolben, welche die erwähnte Raulinsche Kulturflüssigkeit mit Saccharose (in welche man Amylomyces β ausgesät hatte) enthielten, wurden in den Thermostaten (Temp. 30°) gestellt. Am 2. Tag wurde ein Kolben herausgenommen und das Gewicht der in diesem Zeitraume gebildeten Trockensubstanz von Amylomyces β sowie des von ihm verbrauchten Zuckers festgestellt.

7 ähnliche Kolben dienten zum Kontrollversuch (siehe Tab. I).

I. Saccharose.

Versuchstage	No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β)		No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β)	
	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers
2. Tag	0,0116 g	0,3514 g	0,0044 g	0,2538 g
4. „	0,198 „	1,2643 „	0,0894 „	1,1365 „
6. „	0,5006 „	1,6275 „	0,4044 „	1,2375 „
8. „	1,2326 „	3,7275 „	0,8668 „	2,7075 „
10. „	1,4846 „	4,440 „	1,0294 „	3,1425 „
12. „	1,6106 „	4,96875 „	1,3576 „	4,32875 „
14. „	1,6734 „	5,325 „	1,5444 „	5,3203 „

1) Bei der Bestimmung der einfachen Hexosen wurde keine Säure zugesetzt.

2) König, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 1898. p. 212.

3) König, l. cit. Tab. VIII am Ende.

Folgende Krümmungslinien machen den Entwickelungsprozeß von Amylomyces β (Fig. 2) und den Zuckerverbrauch (Fig. 1) ersichtlich. An der Abscißlinie sind die Versuchstage durch Punkte bemerkt (2., 4., 6. u. s. w. Tag), an der Ordinatlinie ist das Gewicht der gebildeten Trockensubstanz oder des verbrauchten Zuckers in Gramm bezeichnet. Die links verlaufende Krümmungslinie verhält sich zur 1. Versuchsserie, die rechts verlaufende zu der 2.[1]).

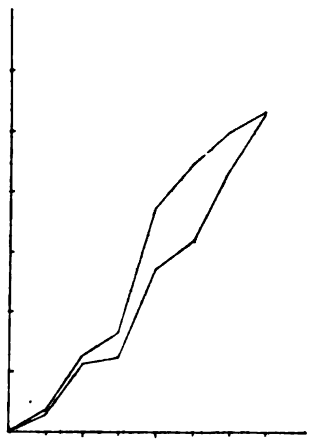


Fig. 1.

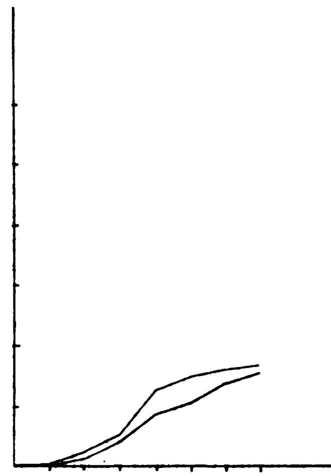


Fig. 2.

Beobachten wir das Gewicht der im Laufe einer gewissen Zeit (2 Tage) sich bildenden Trockensubstanz von Amylomyces β, so läßt sich folgende Tabelle aufstellen:

Die Zunahme der Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 2. Tage	0,0116 g	0,0044 g
„ 4. „	0,082 „	0,0850 „
„ 6. „	0,3086 „	0,3150 „
„ 8. „	0,7260 „	0,4624 „
„ 10. „	0,2520 „	0,1626 „
„ 12. „	0,1260 „	0,3282 „
„ 14. „	0,0628 „	0,1868 „

Es ist daraus zu ersehen, daß diese Zunahme der Trockensubstanz immer größer wird und ihr Maximum am 8. Tage der Pilzentwickelung erreicht (von dieser Zeit an bildet schon das Mycelium eine Haut auf der Oberfläche). Nach dem 8. Tage nimmt die Trockensubstanz schon weniger zu[2]). Siehe Fig. 3 und 4 — die Krümmungslinien der Zunahme von Trockensubstanz des Amylomyces β in 1. und 2. Versuchsserie.

1) Das oben Erwähnte bezieht sich auch auf die übrigen in diesem Kapitel enthaltenen Krümmungslinien, wobei die fehlenden Stellen derselben punktiert sind.

2) Vergl. Raulin, l. cit. p. 206.

Meine Bestimmungsart läßt die genaue Quantität des verbrauchten Zuckers nicht feststellen; wenn man aber berechnen will, wie sich die relative Quantität des verbrauchten Zuckers

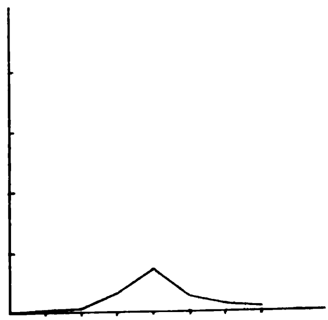


Fig. 3.

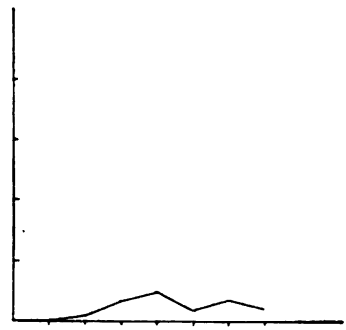


Fig. 4.

zu der Bildung der organischen Substanz verhält, so lassen sich die Resultate in folgender Tabelle aufstellen:

Das Verhältnis des verbrauchten Zuckers zum Gewichte sich bildender Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 2. Tage	30,30	57,70
„ 4. „	6,40	12,70
„ 6. „	3,20	3,00
„ 8. „	3,02	3,10
„ 10. „	3,00	3,00
„ 12. „	3,00	3,12
„ 14. „	3,18	3,40

Es ist leicht zu ersehen, daß das Verhältnis der Trockensubstanz zu dem verbrauchten Zucker fast überall $^1/_3$ beträgt, den 2. und 7. Tag ausgenommen, wo das Verhältnis bedeutend kleiner erscheint. Auch bei den Versuchen mit anderen Kohlenhydraten konnte ich nicht beobachten, daß dieses Verhältnis an den ersten Entwickelungstagen des Schimmelpilzes größer wäre als an den folgenden Tagen [1]).

II. Versuch (Glukose)[2]).

Versuchstage	No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β)		No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β)	
	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers
2. Tag	0,0108 g	0,54375 g	0,0026 g	0,346875 g
4. „	0,1698 „	1,05555 „	0,1258 „	0,759375 „
6. „	0,3650 „	2,896875 „	0,3022 „	1,85625 „
8. „	0,7620 „	3,403125 „	0,4924 „	1,884375 „
10. „	1,2402 „	4,01250 „	0,6042 „	2,296875 „
12. „	1,7160 „	5,7046875 „	1,4846 „	5,184375 „
14. „	1,8422 „	5,9546875 „	1,6858 „	5,27583 „

1) Vergl. Duclaux, Traité de microbiologie. T. I. 1898. p. 195.

2) Folgende Versuche (II—IV) waren im allgemeinen auf dieselbe Weise, wie der I. Versuch mit Saccharose vorgenommen. Die betreffenden Krümmungslinien (Fig. 5—15) sind auch in derselben Ordnung verteilt.

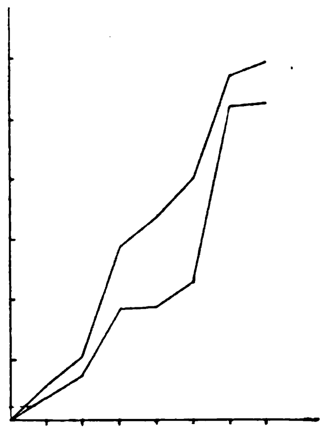


Fig. 5.

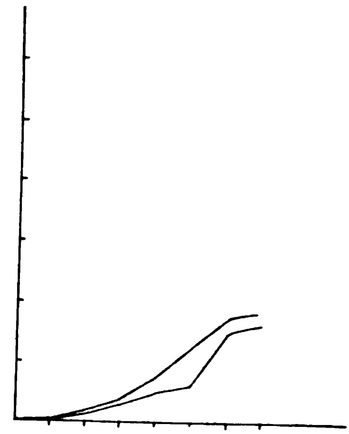


Fig. 6.

III. Versuch (Maltose).

Versuchs-tage	No. 1 (6 Kolben mit Amylomyces β)		No. 2 (5 Kolben mit Amylomyces β)	
	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbraucht. Zuckers
4. Tag	0,4622 g	2,85940 g	0,2356 g	2,596870 g
6. „	0,6066 „	3,3000 „	0,4190 „	2,786875 „
8. „	1,1206 „	4,44375 „	0,9920 „	4,303125 „
10. „	1,6690 „	5,915625 „	1,1540 „	4,378125 „
12. „	1,7224 „	6,000 „	1,6280 „	5,93250 „
14. „	1,8286 „	6,000 „	—	—

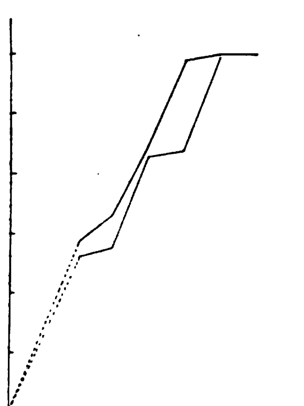


Fig. 7.

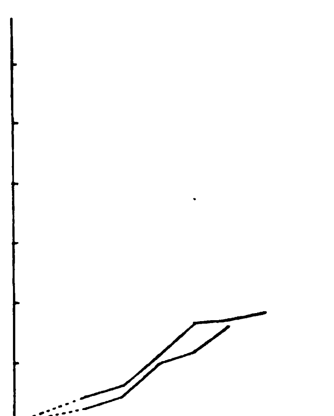


Fig. 8.

IV. Versuch (Fruktose).

Versuchs-tage	7 Kolben mit Amylomyces β	
	Gewicht der Trockensubstanz	Gewicht des verbrauchten Zuckers
2. Tag	0,0042 g	0,431250 g
4. „	0,0084 „	0,450000 „
6. „	0,0550 „	0,703125 „
8. „	0,1194 „	1,05000 „
10. „	0,1222 „	1,059375 „
12. „	0,1918 „	1,50000 „
14. „	0,2754 „	2,071875 „

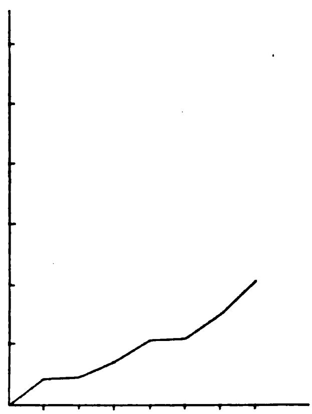


Fig. 9.

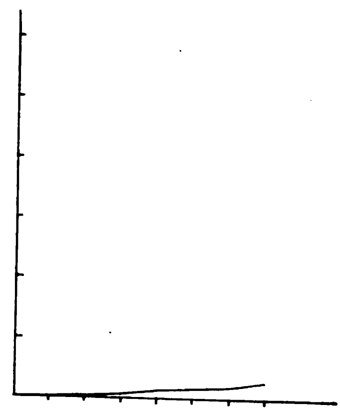


Fig. 10.

Wollen wir nun nach diesen Zahlenangaben die Zunahme der Trockensubstanz in der bestimmten Zeiteinheit (genau so wie bei Saccharose) berechnen, so ergeben sich folgende Tabellen.

Glukose. Die Zunahme der Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 2. Tage	0,0108 g	0,0026 g
„ 4. „	0,1590 „	0,1232 „
„ 6. „	0,1952 „	0,1764 „
„ 8. „	0,3970 „	0,1902 „
„ 10. „	0,4782 „	0,1120 „
„ 12. „	0,4758 „	0,8804 „
„ 14. „	0,1262 „	0,2012 „

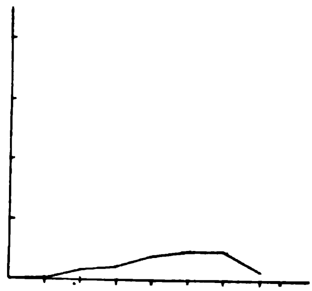


Fig. 11.

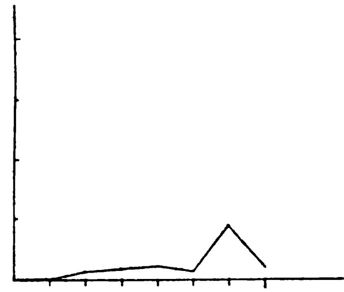


Fig. 12.

Maltose. Die Zunahme der Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 6. Tage	0,1444 g	0,1834 g
„ 8. „	0,5140 „	0,5730 „
„ 10. „	0,5484 „	0,1620 „
„ 12. „	0,0534 „	0,4740 „
„ 14. „	0,1062 „	—

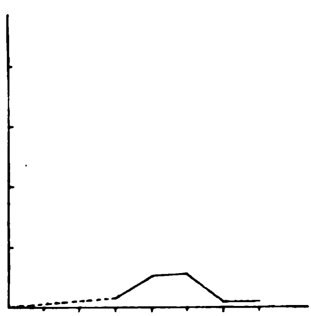


Fig. 13.

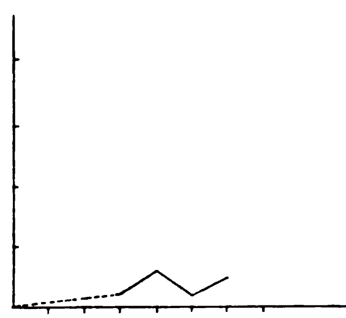


Fig. 14.

Fruktose. Die Zunahme der Trockensubstanz von Amylomyces β.

Am 2. Tage	0,0042 g
„ 4. „	0,0042 „
„ 6. „	0,0466 „
„ 8. „	0,0644 „
„ 10. „	0,0028 „
„ 12. „	0,0696 „
„ 14. „	0,0836 „

Die Zahlenangaben machen klar, daß die Zunahme der Trockensubstanz in der bestimmten Zeiteinheit (genau so wie es bei Saccharose vor sich geht) immer größer wird, indem sie ihr Maximum etwas später, nämlich am 10. oder 12. Tage der Pilzentwickelung,

erreicht; nachher fängt der Schimmelpilz an, immer weniger zuzunehmen.

So verhält es sich mit Glukose und Maltose, was aber Fruktose anbetrifft, so wird die Zunahme unaufhörlich größer, wobei die Pilzentwickelung in diesem Falle sehr schlecht erfolgt.

Wollen wir jetzt das Verhältnis eines jeden gebrauchten Zuckers zur erhaltenen Trockensubstanz von Amylomyces β bestimmen, so ergibt sich das folgende:

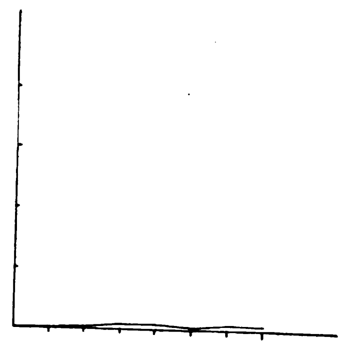


Fig. 15.

Glukose. Verhältnis des verbrauchten Zuckers zu der gebildeten Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 2. Tage	50,3	134,4
„ 4. „	6,2	6,03
„ 6. „	8,0	6,10
„ 8. „	4,4	3,8
„ 10. „	3,2	3,8
„ 12. „	3,3	3,5
„ 14. „	3,2	3,1

Maltose. Verhältnis des verbrauchten Zuckers zu der gebildeten Trockensubstanz von Amylomyces β.

	No. 1	No. 2
Am 4. Tage	6,1	11,02
„ 6. „	5,4	6,6
„ 8. „	3,9	4,3
„ 10. „	3,5	3,8
„ 12. „	3,4	3,6
„ 14. „	3,2	—

Fruktose. Verhältnis des verbrauchten Zuckers zu der gebildeten Trockensubstanz von Amylomyces β.

Am 2. Tage	102,6
„ 4. „	53,5
„ 6. „	12,7
„ 8. „	8,8
„ 10. „	8,6
„ 12. „	7,8
„ 14. „	7,5

Bei Verwendung von Glukose und Maltose wird das Verhältnis des gebildeten organischen Stoffes zum verbrauchten Zucker etwas später stabil als bei Saccharose — ungefähr am 10. Tage der Pilzentwicklung; bis dahin weicht es sehr von $^1/_3$ ab. Es ist dabei leicht zu ersehen, daß die größte Annäherung dieses Verhältnises zu $^1/_3$ nur bei Sacharose zu beobachten ist, also muß die letztere eines von den sparsamsten Nährmitteln für Amylomyces β sein.

Die Glukose und Maltose geben in dieser Beziehung der Saccharose etwas nach. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß erst, wenn der Organismus älter wird, er beginnt, sich sparsamer zum Nährsubstrate (Kohlenhydrat) zu verhalten. So erfolgt zum Beispiel bei Fruktose die Entwicklung von Amylomyces β sehr langsam und schwach und das erwähnte Verhältnis bleibt immer unter $^1/_8$.

Außer den 4 erwähnten Kohlenhydraten wurden noch folgende, in Bezug auf ihren Nährwert für Amylomyces β untersucht: Galaktose, Laktose, Raffinose, Inulin und Dextrin. Die Resultate lassen sich durch folgende Zahlen ausdrücken: (Die Ergebnisse wurden 14 Tage nach der Aussaat von Amylomyces β aufgenommen.)

Galaktose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz am 14. Tage der Pilzentwickelung	Gewicht des verbrauchten Kohlenhydrates
No. 1	0,3998 g	2,0953 g
No. 2	0,5216 „	2,1281 „

Laktose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz am 14. Tage der Pilzentwickelung	Gewicht des verbrauchten Kohlenhydrates
No. 1	0,0052 g	1,2281 g
No. 2	0,0078 „	1,2656 „

Rafinose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz am 14. Tage der Pilzentwickelung	Gewicht des verbrauchten Kohlenhydrates
No. 1	0,1784 g	1,70625 g
No. 2	0,2184 „	1,85625 „

Inulin (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz am 14. Tage der Pilzentwickelung	Gewicht des verbrauchten Kohlenhydrates
No. 1	1,8774 g	wurde nicht genau bestimmt
No. 2	1,8682 „	

Dextrin (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz am 14. Tage der Pilzentwickelung	Gewicht des verbrauchten Kohlenhydrates
No. 1	0,0360 g	wurde nicht genau bestimmt
No. 2	0,1904 „	

Inulin ausgenommen, scheinen sie alle von sehr schlechtem Nährwert für Amylomyces β zu sein. Beobachtet man das Gewicht der Trockensubstanz, das bei einer Kultur von 14 Tagen sich auf den untersuchten Kohlenhydraten gebildet hat, so findet

man, daß Inulin das am meisten nährende Kohlenhydrat ist, und die folgenden (Glukose, Maltose, Saccharose, Galaktose, Fruktose, Rafinose, Dextrin und Laktose) in absteigender Linie immer weniger Nährwert haben.

Auch in Bezug auf die Schnelligkeit, mit welcher sie vom Schimmelpilz verbraucht werden, sind sie etwas voneinander verschieden. Mit größter Energie und Schnelligkeit wird die Maltose verbraucht. Glukose und Saccharose bedürfen etwas längerer Zeit, um in dem Kulturboden zu verschwinden; die übrigen untersuchten Kohlenhydrate werden sehr schlecht von Amylomyces β assimiliert. Inulin bildet eine Ausnahme, da es bei einem großen unverbrauchten Bestand am 14. Tage nach der Pilzentwickelung eine relativ große Zunahme der Trockensubstanz von Amylomyces β verursacht. Wie bekannt, können die zusammengesetzten Kohlenhydrate erst nach einer vorhergehenden Hydrolyse [1]) von der lebenden Zelle assimiliert werden, und allzu schwache Entwickelung des Amylomyces β auf einigen der oben erwähnten Verbindungen läßt sich also durch den Mangel an dem betreffenden hydrolytischen Ferment in dem wachsenden Schimmelpilz erklären. Vielleicht ist die hier entstehende schwache Entwickelung (in Abwesenheit jeder anderen organischen Verbindung in der Kulturflüssigkeit) nur der geringen Hydrolyse eines zusammengesetzten Kohlenhydrates zu verdanken. Diese Hydrolyse konnte stattfinden in einer saueren Kulturflüssigkeit, die sich dabei längere Zeit in einer Temperatur von 30° befand.

Aus den Versuchen ergibt sich klar, daß die Konfiguration einen großen Einfluß auf die Assimilation einer organischen Verbindung ausübt [2]). Glukose, Fruktose und Galaktose sind auf ein und dieselbe Weise gebaut, indem sie nur durch die Anordnung ihrer Atome in den Molekülen voneinander verschieden sind; doch wird nur Glukose erfolgreich von Amylomyces β assimiliert, während Galaktose und besonders Fruktose für seine Entwickelung sehr wenig tauglich sind.

Von besonderem Interesse ist aber, daß Inulin sehr gut von Amylomyces β assimiliert wird, während die aus ihm erhaltene chemisch reine Fruktose diese Eigenschaft nur in einem sehr geringen Maße besitzt. Also nicht nur die chemische Verwandtschaft und die Konfiguration organischer Verbindung hat einen Einfluß auf die Assimilation dieser Verbindung von der lebenden Zelle, sondern hier üben wahrscheinlich auch andere entscheidende Momente eine Wirkung aus [3]).

Man kann voraussetzen, daß die Veränderung des osmotischen Druckes, welche in der Kulturflüssigkeit bei dem Ersatz der Fruktose durch eine gewichtsgleiche Quantität von Inulin stattfindet,

1) Siehe Puriewitsch, Physiologische Untersuchungen über die Pflanzenatmung. 1899. p. 40. (Russisch.)

2) Siehe E. Fischer, Bedeutung der Stereochemie für die Physiologie. (Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. XXVI. p. 60.)

3) Vergl. Pfeffer, Ueber Elektion organischer Nährstoffe. (Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 254.)

eine günstige Wirkung auf die Entwickelung von Amylomyces *β* ausübt. Letzterer Umstand, wenn er wirklich stattfindet, weist zweifelsohne darauf hin, daß für eine gleich gute Entwickelung eines auf verschiedenen Kohlenhydraten kultivierten Schimmelpilzes auch verschiedener prozentiger Gehalt derselben in dem Kulturboden erforderlich ist. Doch will ich bemerken, daß die Versuche mit Inulin noch eine Berichtigung erfordern.

Auf Grund des oben erwähnten, daß Sacharose sich als ein etwas sparsameres Nährmittel für Amylomyces β als Glukose und Maltose erweist, ist zu erwarten, daß die gleichmäßige Kombination der beiden erwähnten Kohlenhydrate mit Fruktose für die Entwickelung des Amylomyces *β* vorteilhafter sein würde. Denn der Zusatz von Fruktose soll wahrscheinlich das Verhalten des Schimmelpilzes zu seinem Nährmaterial (Glukose + Fruktose, Maltose + Fruktose) etwas ökonomischer gestalten, weil in letztem Falle dieselben Bedingungen für die Pilzentwickelung (d. h. sein gleichzeitiger Verbrauch von Glukose und Fruktose) vorhanden wäre.

Es ist daher folgendes zu resumieren:

1) Verschiedene Kohlenhydrate werden ebenfalls mit verschiedener Schnelligkeit von dem kultivierten Amylomyces *β* verbraucht. Die höchste Energie und Schnelligkeit zeigt sich bei dem Verbrauch von Maltose. Glukose und Saccharose nehmen den zweiten Platz ein, während die übrigen, wie Galaktose, Fruktose, Rafinose, nur sehr langsam von dem Kulturboden verschwinden.

2) Alle untersuchten Kohlenhydrate lassen sich, ihrem Nährwert nach, in dieser Reihenfolge aufstellen, bestnährend: Inulin, dann immer weniger nährend: Glukose, Maltose, Saccharose, Galaktose, Fruktose, Raffinose, Dextrin, Laktose. Nur die erstgenannten vier Kohlehydrate gehören zur Kategorie der guten Nährmittel, während alle übrigen für Amylomyces *β* von einem höchst mittelmäßigen Nährwerte, sind.

3) Erreicht der Schimmelpilz ein etwas höheres Lebensalter, so wird das Verhalten der gebildeten Trockensubstanz zu dem verbrauchten Kohlenhydrat etwas stabiler. Für Saccharose ist dieses Verhältnis gleich $^1/_3$, für Maltose und Glukose beträgt es etwas weniger als $^1/_3$.

4) Die Wachstumskrümmungslinie von Amylomyces *β* ist in ihrem Laufe gewissen Schwankungen unterworfen, weil das Wachstum des Schimmelpilzes bald steigend, bald langsamer vor sich geht. Dabei ist auf allen besser nährenden Kohlenhydraten eine Periode der besonders erhöhten Bildung von Trockensubstanz des Schimmelpilzes zu beobachten, wenn seine Zunahme in der bestimmten Zeit (2 Tage) die maximale Größe erreicht.

Diese Periode ist abhängig von der Kultur auf diversen Kohlenhydraten und tritt bald schneller, bald langsamer ein. Annähernd um dieselbe Zeit, in der diese Periode eintritt, wird auch das Verhalten der gebildeten Trockensubstanz des Schimmelpilzes zu dem verbrauchten Kohlenhydrate beständiger (stabiler).

IV.
Untersuchung über die Bildung vom organischen Stickstoff.

In allen Portionen der erhaltenen Trockensubstanz von Amylomyces *β* wurde die Quantität des im Laufe seiner Entwickelungszeit gebildeten Stickstoffes bestimmt, um es zu erklären, ob irgend ein Zusammenhang zwischen dem Grade seiner Bildung und den Eigenschaften von der erwähnten Kohlenhydrate besteht. Ferner wollte ich den Bildungsprozeß von dem allgemeinen und dem Eiweißstickstoff darstellen, der bei der Kultur auf verschiedenen Kohlenhydraten von dem Schimmelpilze gebildet wurde. Der allgemeine Stickstoff wurde nach Kjeldahl[1]), der Eiweißstickstoff nach Stutzers[1]) Methode bestimmt.

Das Verbrennen von organischer Substanz mit Schwefelsäure, oder von Eiweißstoffniederschlägen wurde stets mit Hinzufügen von etwas Quecksilber (1 Tropfen) ausgeführt; für die Zersetzung der Amidoquecksilberverbindungen aber wurden 10 ccm 20 % Schwefelkalium in Destillierkolben zugesetzt.

Folgende titrierte Flüssigkeiten wurden gebraucht: Schwefelsäure — $^1/_{20}$ normal. Lösung und und Ammoniak — $^1/_{10}$ normal. (10,1 ccm Ammoniak brauchte man, um 10 ccm H_2SO_4 zu neutralisieren.

Die Reinheit der gebrauchten Lösungen wurde durch die Bestimmung der Stickstoffquantität in Asparagin geprüft. Zwei abgewogene Mengen des überkristallisierten und über der Schwefelsäure ausgetrockneten Asparagins (0,2216 g und 0,1746 g) wurden in Bezug auf ihren Stickstoffgehalt auf soeben erwähnte Weise untersucht. Es hat sich dabei erwiesen:

1) 0,2216 g Asparagin.

Verbunden $^1/_{20}$ normal H_2SO_4 29,0009 ccm	Stickstoffgehalt: 0,0406126 g, oder — 18,32 Proz.

2) 0,1746 g Asparagin.

Verbunden $^1/_{20}$ normal H_2SO_4 21,97 ccm	Stickstoffgehalt: 0,032158 g, oder 18,42 Proz.

Im Vergleich mit dem theoretischen prozentigen Gehalt des Stickstoffes in Asparagin — 18,66 % — ist ein Unterschied von circa 0,2—0,3 Proz.

Als Indikator wurde Alkohollösung von Kongorot gebraucht.

I. (Saccharose).

7 Kolben mit kultiviertem Amylomyces *β*. Jeden 2. Tag wurde der Stickstoffgehalt in der zu dieser Zeit erhaltenen Pilztrockensubstanz bestimmt. Dasselbe wurde mit 7 anderen Kolben, die als Kontrollversuch aufgestellt waren, vorgenommen.

---

1) Morcowin, Methoden der quantitativen Bestimmung der Eiweisstoffe pflanzlichen Ursprungs. [Russisch.] — Francfurt, Methoden der chemischen Untersuchung von Stoffen pflanzlichen Ursprungs. [Russisch.]

No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
2. Tag	0,0116 g	0,001960 g	—
4. „	0,198 „	0,02100	—
6. „	0,5006 „	—	—
8. „	1,2326 „	0,07284666 „	0,0412708 g
10. „	1,4846 „	0,07586306 „	0,0593840 „
12. „	1,6106 „	0,0710664 „	0,05616160 „
14. „	1,6734 „	0,0627525 „	0,051724794 „

No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
2. Tag	0,0044 g	0,000980 g	—
4. „	0,0894 „	—	—
6. „	0,4044 „	—	—
8. „	0,8668 „	0,05998256 „	0,05096784 g
10. „	1,0294 „	0,06731580 „	0,05908756 „
12. „	1,3576 „	0,07154552 „	0,06163504 „
14. „	1,5444 „	0,06115824 „	0,05042466 „

Folgende Krümmungslinien machen den Bildunsgprozeß des allgemeinen (Fig. 16) und des Eiweißstickstoffes (Fig. 17) von dem auf Saccharose kultivierten Amylomyces β ersichtlich. An den Abscißlinien sind die Versuchstage in folgender Reihe bemerkt: 2., 4., 6. u. s. w. Tag, an den Ordinatlinien sind die Mengen von allgemeinem oder Eiweißstickstoff in Decigrammen angegeben. Die oberen Linien beziehen sich auf die erste Serie der Bestimmungen, die unteren auf die zweite Serie. Die fehlenden Stellen der Krümmungslinien sind punktiert.

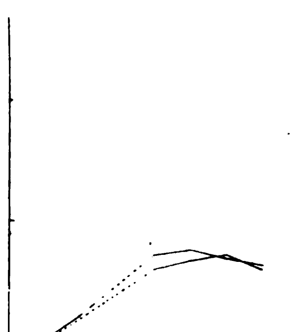


Fig. 16.

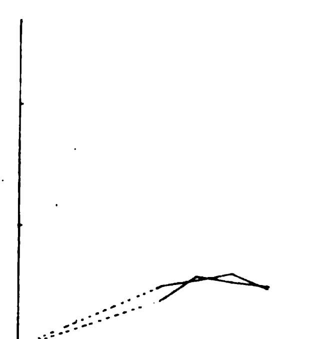


Fig. 17.

II. (Glukose)[1].)

No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
2. Tag	0,0108 g	0,00168 g	—
4. „	0,1698 „	0,013420 „	—
6. „	0,3650 „	0,03360 „	—
8. „	0,7620 „	0,0587502 „	—
10. „	1,2402 „	0,102527334 „	0,09090666 g
12. „	1,7160 „	0,084049680 „	0,0677820 „
14. „	1,8422 „	0,075806530 „	—

No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
2. Tag	0,0026 g	0,00084 g	—
4. „	0,1258 „	0,013580 „	—
6. „	0,3022 „	0,02800 „	—
8. „	0,4924 „	0,035728544 „	—
10. „	0,6042 „	0,03594990 „	0,02863908 g
12. „	1,4846 „	0,079396408 „	0,06769776 „
14. „	1,6858 „	0,078490848 „	0,06507188 „

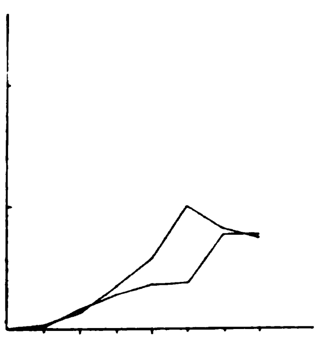


Fig. 18.

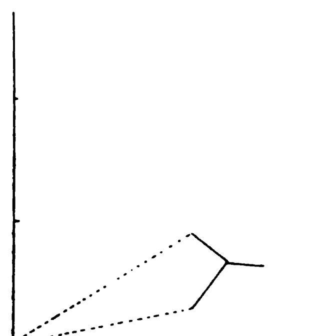


Fig. 19.

III. (Maltose).

No. 1 (6 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
4. Tag	0,4622 g	0,0748764 g	0,03152204 g
6. „	0,6066 „	0,04276530 „	0,03669930 „
8. „	1,1206 „	0,06230530 „	0,05020288 „
10. „	1,6690 „	0,1036449 „	0,0640896 „
12. „	1,7224 „	0,09008152 „	0,05770040 „
14. „	1,8286 „	0,06820678 „	0,05321226 „

1) Folgende Versuche (II—IV) wurden im allgemeinen auf dieselbe Weise wie der erste Versuch mit Saccharose vorgenommen. Die betreffenden Krümmungslinien (Fig. 18—22) sind auch auf dieselbe Weise verteilt.

No. 2 (5 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
4. Tag	0,2356 g	0,0235648 g	— g
6. „	0,4190 „	0,0346932 „	0,0151678 „
8. „	0,9920 „	0,0573376 „	0,0449376 „
10. „	1,1540 „	0,05504580 „	0,0405040 „
12. „	1,6280 „	0,06039880 „	0,04656080 „

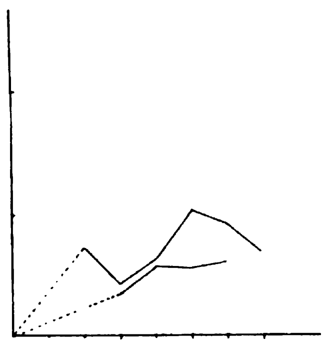


Fig. 20.

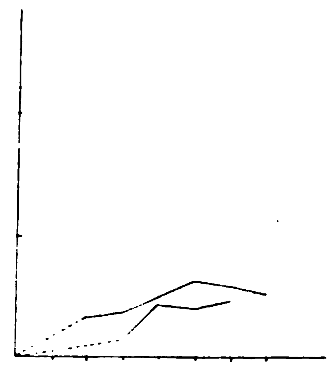


Fig. 21.

IV. (Fruktose).
(7 Kolben mit Amylomyces β)

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff
2. Tag	0,0042 g	0,001526 g
4. „	0,0084 „	0,002772 „
6. „	0,0550 „	0,0062384 „
8. „	0,1194 „	0,0117824 „
10. „	0,1222 „	0,012894 „
12. „	0,1918 „	0,0178822 „
14. „	0,2754 „	0,025578 „

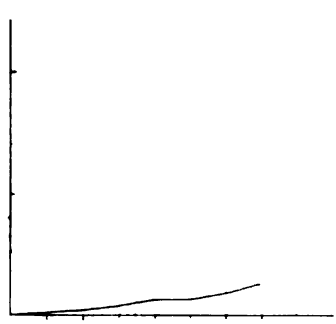


Fig. 22.

Die erhaltenen Zahlen weisen darauf hin, daß in der Bildung des allgemeinen und des Eiweißstickstoffes von dem auf oben erwähnten Kohlenhydraten kultivierten Amylomyces β eine gewisse Regelmäßigkeit besteht: Die absolute Stickstoffquantität nimmt anfangs immer zu, indem sie ihr Maximum annähernd am 10.—12. Tage der Pilzentwickelung erreicht; später fängt der Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz des Schimmelpilzes an abzunehmen. Fruktose ist eine Aus-

nahme (sie ist im allgemeinen für die Entwickelung des Amylomyces β sehr wenig tauglich).

Gleichzeitig also mit der unaufhörlichen Zunahme der stickstofflosen Substanz von Amylomyces β im Verlauf seiner Entwickelung beginnt aller Wahrscheinlichkeit nach der Zerfall seines organischen Stickstoffes (vielleicht auch bei einer weiteren Fortbildung desselben) von einem Momente ab; doch bleiben die Ursachen und der Zweck dieser Erscheinung unbekannt.

Der Gehalt des Stickstoffes in der Trockensubstanz des auf den übrigen Kohlenhydraten kultivierten Amylomyces β hat folgende Resultate ergeben:

Galaktose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz von Amyl. β am 14. Tage seiner Entwickelung	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
No. 1	0,3998 g	0,02606696 g	0,02486726 g
No. 2	0,5216 „	0,03776384 „	—

Inulin (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz von Amyl. β am 14. Tage seiner Entwickelung	Allgemeiner Stickstoff	Eiweißstickstoff
No. 1	1,8774 g	0,09330678 g	0,06270516 g
No. 2	1,8682 „	0,05380416 „	0,04988094 „

Laktose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz von Amyl. β am 14. Tage seiner Entwickelung	Allgemeiner Stickstoff
No. 1	0,0052 g	0,000840 g
No. 2	0,0078 „	0,001120 „

Dextrin (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz von Amyl. β am 14. Tage seiner Entwickelung	Allgemeiner Stickstoff
No. 1	0,0360 g	0,005124 g
No. 2	0,1904 „	0,018578 „

Raffinose (2 Kolben mit Amylomyces β).

	Gewicht der Trockensubstanz von Amyl. β am 14. Tage seiner Entwickelung	Allgemeiner Stickstoff
No. 1	0,1784 g	0,017332 g
No. 2	0,2184 „	0,021210 „

Berechnet man den Stickstoffgehalt in Amylomyces β bei seinem Kultivieren auf allen erwähnten Kohlenhydraten am 14. Tage seiner Entwickelung in Proz. der Trockensubstanz, so erhält man folgende Tabelle:

		Gewicht der Trocken-substanz	Allgemeiner Stickstoff		Eiweißstickstoff	
			Absolute Quantität	Proz. Gehalt (in Proz. der Trocken-substanz)	Absolute Quantität	Proz. Gehalt (in Proz. der Trocken-substanz)
Inulin	No. 1	1,8774 g	0,09330678 g	4,97	0,06270516 g	3,34
	No. 2	1,8682 „	0,05380416 „	2,88	0,04988094 „	2,67
Maltose		1,8286 „	0.06820678 „	3,73	0,05321226 „	2,91
Glukose	No. 1	1,8422 „	0,075806530 „	4,115	—	—
	No. 2	1,6858 „	0,078490848 „	4,65	0,06507188 „	3,86
Saccha-rose	No. 1	1,6734 „	0,0627525 „	3,75	0.051724794 „	3,091
	No. 2	1,5444 „	0,06115824 „	3,96	0,05042466 „	3,27
Galaktose	No. 1	0,3998 „	0,02606696 „	6,52	0,02486726 „	6,37
	No. 2	0,5216 „	0,03776384 „	7,24	—	—
Fruktose		0,2754 „	0,025578 „	9,29	—	—
Raffinose	No. 1	0,1784 „	0,017332 „	9,7	—	—
	No. 2	0,2184 „	0,021210 „	9,7	—	—
Dextrin	No. 1	0,0360 „	0,005124 „	14,23	—	—
	No. 2	0,1904 „	0,018578 „	9,75	—	—
Laktose	No. 1	0,0052 „	0,000840 „	16,0	—	—
	No. 2	0,0078 „	0,001120 „	14,36	—	—

Es zeigt sich also, daß die Ersetzung eines Kohlenhydrates durch ein anderes, das für die Entwickelung des angegebenen Organismus weniger taugt, eine starke Verzögerung in der allgemeinen Entwickelung des letzteren verursacht. Diese Verzögerung läßt sich durch die gehemmte Stickstoffbildung, hauptsächlich aber durch die langsamere Entwickelung der stickstofflosen organischen Substanz ausdrücken, weil der Stickstoffgehalt, in Proz. der Trockensubstanz berechnet, dabei steigt, wie aus den angeführten Zahlen zu ersehen ist.

Auf Grund des Gesagten läßt sich noch folgendes resumieren:

1) Die Bildung von organischem Stickstoff durch den Schimmelpilz hängt mit seinem allgemeinen Entwickelungsprozesse in dem Sinne zusammen, daß bis zum Aufhören seines erhöhten Wachstums ein unmitelbares Steigen seines Stickstoffgehaltes stattfindet. Nachdem aber das erhöhte Wachstum des Schimmelpilzes aufgehört hat, kann die Stickstoffbildung noch einige Zeit fortdauern, so wie es zum Beispiel bei dem Kultivieren von Amylomyces β auf Saccharose zu beobachten ist.

Hier fällt zusammen: Die größte Zunahme der Trockensubstanz in der bestimmten Zeit (2 Tage) mit dem 8. Tage der Pilzentwickelung, während sein Stickstoffgehalt (der allgemeine sowie der Eiweißstickstoff) noch am 10. Tage (No. 1) und sogar am 12. (No. 2) steigt. Bei anderen Versuchen (Glukose, Maltose) fängt schon mit dem Ende dieser Periode erhöhten Wachstums von Amylomy-

ces β der Gehalt an allgemeinem und Eiweißstickstoff an abzunehmen. Man kann daher voraussetzen, daß erst nach dieser Periode die Zersetzung der gebildeten stickstoffhaltigen organischen Substanz erfolgen kann.

2) Beobachten wir, was der Allgemein- und Eiweißstickstoffgehalt in Prozenten der Trockensubstanz des auf Saccharose, Glukose, Maltose und Fruktose kultivierten Amylomyces β in den verschiedenen Stufen seiner Entwickelung ergibt, so erhalten wir folgende Zahlen:

I. Saccharose.

No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
2. Tag	0,0116 g	16,89	—
4. „	0,198 „	10,6	—
6. „	0,5006 „	—	—
8. „	1,2326 „	5,91	3,58
10. „	1,4846 „	5,11	4,0
12. „	1,6106 „	4,4	3,48
14. „	1,6734 „	3,75	3,09

No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
2. Tag	0,0044 g	22,5	—
4. „	0,0894 „	—	—
6. „	0,4044 „	—	—
8. „	0,8668 „	6,92	5,88
10. „	1,0294 „	6,57	5,74
12. „	1,3576 „	5,27	4,54
14. „	1,5444 „	3,96	3,27

II. Glukose.

No. 1 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchstage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
2. Tag	0,0108 g	15,55	—
4. „	0,1698 „	6,72	—
6. „	0,3650 „	9,18	—
8. „	0,7620 „	7,71	—
10. „	1,2402 „	8,27	7,33
12. „	1,7160 „	4,9	3,95
14. „	1,8422 „	4,12	—

No. 2 (7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchs-tage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
2. Tag	0,0026 g	32,3	—
4. „	0,1258 „	10,8	—
6. „	0,3022 „	9,26	—
8. „	0,4924 „	7,26	—
10. „	0,6042 „	5,95	4,74
12. „	1,4846 „	5,35	4,56
14. „	1,6858 „	4,66	3,86

III. Maltose.

No. 1 (6 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchs-tage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
4. Tag	0,4622 g	16,2	6,82
6. „	0,6066 „	7,05	6,05
8. „	1,1206 „	5,56	4,48
10. „	1,6690 „	6,21	3,84
12. „	1,7224 „	5,23	3,35
14. „	1,8286 „	3,73	2,91

No. 2 (5 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchs-tage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet	Eiweißstickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
4. Tag	0,2356 g	10,0	—
6. „	0,4190 „	8,28	3,62
8. „	0,9920 „	5,78	4,53
10. „	1,1540 „	4,77	3,51
12. „	1,6280 „	3,71	2,86

IV. Fruktose.

(7 Kolben mit Amylomyces β).

Versuchs-tage	Gewicht der Trockensubstanz	Allgemeiner Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz berechnet
2. Tag	0,0042	36,3
4. „	0,0084	33,0
6. „	0,0550	11,34
8. „	0,1194	9,86
10. „	0,1222	10,55
12. „	0,1918	9,32
14. „	0,2754	9,29

Man ersieht hieraus, daß der Stickstoffgehalt, in Prozenten der Trockensubstanz von Amylomyces β berechnet, im Laufe seiner Entwickelung überall abnimmt. Es zeigt sich demnach, daß im Laufe der Pilzentwickelung, trotz der eine gewisse Zeit dauernden

Zunahme seines Stickstoffgehaltes, die lebenden Zellen relativ ärmer an organischem Stickstoff werden.

3) Hauptbestandteil der sich bildenden stickstoffhaltigen organischen Substanz des Amylomyces β bildet, wie aus den Zahlenangaben ersichtlich, der Eiweißstickstoff.

4) Verschiedene Kohlenhydrate verursachen verschiedene Stufen der Stickstoffbildung des kultivierten Schimmelpilzes.

5) Die Ersetzung eines besser nährenden Kohlenhydrates durch ein anderes, weniger taugliches für die Entwickelung des Schimmelpilzes führt eine relativ befördernde Stickstoffbildung in seinem Organismus herbei. Dieses ist wahrscheinlich in diesem Falle dem erhöhten Verbrauch von Ammoniak- und Salpetersäuresalzen in der Kulturflüssigkeit durch den Schimmelpilz zuzuschreiben.

Alle Studien über Amylomyces β wurden im botanischen Kabinett des Polytechnischen Instituts in Warschau und auf Veranlassung des Herrn N. Morcowin ausgeführt, dem ich für seine liebenswürdige Anleitung und seine Ratschläge hier meinen besten Dank ausdrücken möchte.

Warschau, 1903.

Ueber die Selbsterhitzung des Heues.

[Mitteilungen aus der bakteriologischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

Mit 1 Tafel.

Es ist eine von alters her bekannte Tatsache, daß, wenn Heu in nicht durchaus trockenem Zustande gewonnen wird, in dem Haufen Wärmeentwickelung stattfindet, welche man als Selbsterhitzung bezeichnet (holländisch: hooibroei). Fast jedes Heu, wie man es in dem feuchten Klima Hollands gewinnen kann, muß einigermaßen der Selbsterhitzung unterworfen gewesen sein zur Abtötung der Schimmelsporen, sonst tritt bei dem üblichen Feuchtigkeitsgrade die Gefahr des Verschimmelns ein. Dies ist dann die gelinde, günstige Selbsterhitzung. Ganz anders ist es aber, wenn der Feuchtigkeitsgrad ein zu hoher geblieben ist. Die Temperatur steigt dann weit über die gewünschte hinaus und es entsteht so ein süßlicher, an Pumpernickel erinnernder Geruch; das Heu wird schwarz und spröde, sodaß man es mit der Hand fein reiben kann; es besitzt alsdann schon keinen Futterwert mehr und am Ende kann durch bisher unbekannte Ursachen Selbstentzündung eintreten, namentlich wenn das Heu in der Scheune aufbewahrt wird oder in einem gut beschützten Diemen angehäuft ist. Diese starke Erhitzung des Heues tritt nicht gleichmäßig durch den ganzen Diemen auf, vielmehr findet man verschiedene Brühstätten, welche mehr oder weniger durch die Heumasse verteilt sind. Als Schutz-

mittel gegen diese wenig erwünschten Erscheinungen bestimmt man in Holland, teils von Obrigkeitswegen, in sehr primitiver Weise die Temperatur an verschiedenen Stellen des Haufens, indem man eine lange, dünn ausgezogene Eisenstange in das Heu steckt, einige Zeit darin läßt und nach dem Ausziehen versucht, ob die Wärme des Eisens noch erlaubt, daß man es überall mit der Hand festhält. Da die Stange an ihrer Spitze widerhakenförmig umgebogen ist, bleibt ein wenig Heu von der Stelle, bis wohin die Stange eingedrungen ist, eingeklemmt und wird beim Hinausziehen hervorgebracht. Das Aussehen dieses Heues in Vereinigung mit der beschriebenen rohen Schätzung der Temperatur an der Spitze gibt in groben Zügen ein Bild über das Fortschreiten der Selbsterhitzung. Kann man die Hitze der Stange mit der Hand nicht mehr vertragen und ist die Farbe des Heues dunkel bis bräunlich-schwarz, so muß man das Heu aus der Scheune entfernen und zur Abkühlung ausbreiten. Dabei erscheinen entsteigen demselben saure Dämpfe, welche die Arbeit in derartigen Haufen zu einer recht unangenehmen machen. In welcher Weise die Selbstentzündung im Heu entsteht, ist noch nicht aufgeklärt worden. Wohl erzählte uns ein Landwirt, der einen sehr stark erhitzten Haufen umsetzen mußte, daß, wenn er eine Portion des am meisten angegriffenen Heues vom Diemen hinunterwarf, diese sich von selbst entzündete. Andere bestätigten auch, daß derartiges Heu sich bei starkem Luftzutritt entzündet. Hier würde also ein pyrophorer Zustand geschaffen worden sein. Wie bekannt, wird angenommen, daß Bakterien die Ursachen der Selbsterhitzung seien. In dieser Hinsicht wurde zwar nichts bewiesen, aber seit F. Cohns Publikation in den Berichten der Botanischen Gesellschaft. 1893. p. 66 wurden alle Prozesse jener Art der Bakterientätigkeit zugeschrieben.

Zur Erhaltung eines Einblicks in den Verlauf des Prozesses machten wir vorläufig Temperaturbestimmungen an einigen Haufen mit starker Selbsterhitzung. Gelegenheit dazu wurde uns unter anderem geboten bei zwei Landwirten in der unmittelbaren Nähe der Versuchsstation. Ein dünn ausgezogenes Eisenrohr wurde in die schlimmste Stelle des Haufens eingetrieben und hierauf ein Maximumthermometer an einem Eisendraht eingeschoben. Die Temperatur zeigte in den beiden Haufen 85° C resp. 96° C.

In beiden Fällen wurde das Heu auseinandergeworfen; nach der Meinung der Eigentümer war also direkte Gefahr für Selbstentzündung vorhanden. Auch das Gas in den Diemen kam zur Untersuchung. Es wurde in genügender Menge in bekannter Weise gesammelt. Die Analyse zeigte folgende Zusammensetzung: 7,0 Proz. Kohlensäure, 12,4 Proz. Sauerstoff, 80,6 Proz. Stickstoff.

Da ursprünglich die gewöhnliche atmosphärische Luft da war in dem Verhältnis von 21 Teilen Sauerstoff gegen 79 Teile Stickstoff, so geht hieraus hervor, daß Kohlensäure gebildet, dagegen Sauerstoff verschwunden ist, und zwar in größerer Menge als es für die entstandene Kohlensäure höchstenfalls notwendig war. Zur Untersuchung der Aenderungen, welche in der Zusammensetzung des Heues eintraten, entnahmen wir dem ersten Haufen eine Portion

stark erhitzten Heues und in der unmittelbaren Nähe eine zweite Portion, welche nicht durch Selbsterhitzung gelitten hatte. Die Zusammensetzung dieser beiden Proben war auf Trockensubstanz umgerechnet:

	Durch Selbsterhitzung gelitten	Normales Heu
Asche	9,2 %	8,4 %
Eiweiß	11,5 „	10,8 „
Pentosanen	20,6 „	24,0 „
Rohfaser	35,4 „	31,6 „
Rohfett	3,1 „	2,0 „
Stickstofffreie Extraktstoffe	20,2 „	23,2 „

Wenn man diese Zahlen miteinander vergleicht, so geht daraus hervor, daß durch die Selbsterhitzung der Asche-, Eiweiß-, Rohfaser-[1]) und Rohfettgehalt[2]) zunimmt, der Pentosangehalt und der stickstofffreien Extraktstoffe dagegen verringert wird. Es verschwinden also bei diesem Prozeß an erster Stelle stärke- und zuckerähnliche Substanzen.

Wie schon gesagt, entstehen bei der Selbsterhitzung Dämpfe, welche stark sauer reagieren. Mit einem blauen Lackmuspapierchen zeigt sich dies sehr leicht. Die Probe selbsterhitzten Heues reagierte ebenfalls sauer und der Geruch erinnerte an Ameisensäure. Deshalb wurde untersucht, ob tatsächlich diese Säure vorhanden war. Zu diesem Zwecke wurden etwa 200 g des Heues in einem Kolben mit Wasser übergossen und ein guter Teil desselben überdestilliert. Das saure Destillat wurde mit Natronlauge neutralisiert und bis zur Trockenheit eingedampft, der Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen und Silbernitratlösung zugesetzt. Reduktion des letzten bis zu Silber trat nach dem Kochen ein. Aus dem Flüchtigwerden mit Wasserdampf, dem stark reizenden Geruch und aus der reduzierenden Eigenschaft dürfte geschlossen werden, daß diese Säure Ameisensäure ist. Aus diesen Beobachtungen geht demnach hervor, daß die Selbsterhitzung des Heues ein Prozeß ist, wobei:

1) Wärme entwickelt wird, welche wenigstens nahezu 100° C erreichen kann;

2) Pentosane und stärkeähnliche Stoffe angegriffen werden;

3) Ameisensäure gebildet wird.

Inwiefern die Anwesenheit der Kohlensäure im Heuhaufen in Beziehung steht mit der Selbsterhitzung, wollen wir außer Betracht lassen, weil Kohlensäureentwickelung, wenn auch nicht in dieser Menge, ebenfalls konstatiert wurde in Diemen, welche keine Selbsterhitzung zeigten. Vielleicht würde die Anwesenheit der Kohlensäure auch zurückgeführt werden können auf Atmung der nicht vollständig abgestorbenen Grasstengel.

Einen Mikroorganismus als die direkte Ursache der Selbsterhitzung zu betrachten, ist schon unmöglich mit Rücksicht auf

1) Da bei der Rohfaserbestimmung nach Fr. Holdefleiß immer Pentosane in der Rohfaser zurückbleiben, so wurden diese bestimmt und bei der Rohfaser in Abzug gebracht.

2) Das Rohfett hat als solches in diesem Falle wenig Wert; es ist nur bestimmt worden zur Erhaltung eines besseren Wertes für die stickstofffreien Extraktstoffe.

die hohe Temperatur, welche entwickelt wird. Das Leben ist unter solchen Bedingungen nicht denkbar; zwar würden Bakteriensporen bestehen können, aber weil sie ein latenter Zustand des Lebens sind, können sie hier nicht im Spiele sein. Würden Mikroorganismen eine Rolle spielen, so könnte vielleicht der Prozeß erklärt werden, indem man annähme, daß dieselben einen pyrophoren Zustand des Heues schufen und daß durch den Sauerstoff im Haufen eine allmähliche Oxydation entstehe, welche die Temperatur so hoch auftrieb. In diesem Falle würde man erwarten können, daß eine starke Mikroorganismenentwickelung stattfände an einer Stelle, wo eine starke Selbsterhitzung anfängt. Man müßte also dieselben nachweisen können. Trotzdem ist es uns nie gelungen, Mikroorganismen unter diesen Umständen nachzuweisen, weder durch mikroskopische Betrachtung noch durch Kultivierung [1]).

Diese verschiedenen Tatsachen kombiniert, lassen es sehr fraglich erscheinen, daß Mikroorganismen die Ursache der Selbsterhitzung im Heu sind.

Macht man einen mikroskopischen Durchschnitt durch einen intensiv schwarzen Heustengel, so findet man bei mikroskopischer Betrachtung folgendes (s. Fig. 1) [2]):

Der Inhalt der Zellen, welche die Epidermis bilden, ist ungefärbt, auch die Zellwände nebst Cuticula sind nicht angegriffen oder beschädigt. Bei den anderen Zellen ist gleichfalls die Zellwand unverletzt, aber das Protoplasma ist teilweise oder vollständig schwarz geworden. Die Farbe dieser Zellwände ist zwar einigermaßen gelblich-braun; dies muß unseres Erachtens aber aufgefaßt werden als Diffusion des Farbstoffes aus dem schwarzen Protoplasma in die Zellwände. Auch die Gefäßbündel sind ungefärbt geblieben. Aus dem Nichtgefärbtsein der Epidermiszellen und Gefäßbündel folgt, daß die Schwarzfärbung nicht Stoffen zugeschrieben werden kann, welche von außen her in die Heustengel geraten sind, daß aber der Farbstoff im Stengel selbst entstanden ist. Wenn diese Tatsache also feststeht, dann zeigt dieser Schnitt weiter, daß Bakterien auch nicht die Ursache der Farbenänderung des Protoplasmas sein können, weil diese nie das Innere der Zellen hätten erreichen können, ohne vorher die Zellwand zu zerstören [3]).

Aus alledem geht also hervor, daß die Selbsterhitzung des Heues nicht ein Prozeß sein kann, welcher der Lebensäußerung von Mikroorganismen zugeschrieben werden muß.

Man würde annehmen können, daß man es hier entweder mit einem Enzym oder mit einem physiologischen Prozeß zu tun hätte,

1) Bei dieser Untersuchung wurde normale und erhitzte Heugelatine benutzt. Einen anderen Nährboden, wie z. B. Loefflers Gelatine, zu wählen, würde unseres Erachtens hier nicht angebracht sein, infolge der enormen Abweichung der Zusammensetzung.

2) Die Figur ist eine Photographie eines botanisch nicht näher definierten Stengels aus selbsterhitztem Heu.

3) Die Formänderung der Zellen rührt wahrscheinlich vom Eintrocknen und Umänderung des Protoplasmas bei der Selbsterhitzung her. Die Zellwand würde in dieser Weise zusammengezogen werden und die Zelle zusammengedrückt erscheinen.

aber in beiden Fällen muß doch immer wieder eine sekundäre Wirkung des Sauerstoffes angenommen werden, weil die bei Selbsterhitzung konstatierte Temperatur weit über die Maximumtemperatur der Enzymwirkung oder der Lebensfähigkeit der Pflanzenzellen liegt. Bei beiden Anschauungen muß vorausgesetzt werden, daß erst ein pyrophorer Zustand des Heues eintritt und daß durch Oxydation die Temperatur dann weiter steigt. Falls es jetzt möglich wäre, ein Produkt wie selbsterhitztes Heu zu erhalten in solcher Weise, daß Enzymwirkung oder physiologische Prozesse ausgeschlossen wären, dann würde daraus hervorgehen, daß auch diese Anschauungsweisen über Selbsterhitzung unrichtig sind. Die Darstellung eines derartigen Produktes gelingt verhältnismäßig leicht.

Feuchtes Heu während längerer Zeit bei hoher Temperatur aufbewahrt, gibt allmählich ein vollkommen ähnliches Produkt, wie es bei der Selbsterhitzung entsteht. Der Apparat, welcher bei diesem Versuche gebraucht wurde [1]), bestand erstens aus einer Blechbüchse *A* (s. Fig. 2), am Deckel und Boden versehen mit einem luftdicht verschließenden Hähnchen *b*. An beiden Enden der Büchse waren ringsum 2 Kupferdrähte *c* befestigt worden auf etwa 1 cm Entfernung voneinander. Zwischen diesen beiden Paaren von Ringen drehen sich zwei geschlossene Eisenketten *d*, welche gleichfalls über zwei Scheiben *e* gehen, welche auf einer horizontalen Achse befestigt sind. Auf derselben Achse sitzt eine Antriebscheibe *r*. Die Achse wird getragen durch Zapfen in der Wand der großen Blechbüchse, welche als Thermostat fungiert und deshalb mit Asbest bekleidet ist. Im Deckel dieser Büchse ist eine Durchbohrung zur Aufnahme eines Thermometers und weiter ist in der Büchse 5 cm vom Boden ein Drahtnetz an den Wänden festgelötet. Dieses letztere bildet eine Vorsorge, wenn durch irgend einen Unfall die kleine Büchse aus den Ketten fällt; sonst würde dieselbe unmittelbar mit dem heißen Boden in Berührung kommen [2]). Wird jetzt die Achse in Bewegung gebracht (wir benutzen dazu den kleinen Heinrici-Heißluftmotor), so wird sich die kleine, in den Ketten aufgehängte Büchse gleichfalls umdrehen.

Diese ganze Einrichtung wurde getroffen, damit die Wärme und der Wasserdampf möglichst gleichmäßig durch die ganze Heumasse verteilt würde. Langwierige vorläufige Versuche hatten uns die Notwendigkeit dieser verhältnismäßig umständlichen Methode gezeigt, wenn wir auf einem ausgeglichenen Produkt beständen. Die Büchse *A* wurde mit Heu tüchtig vollgestopft, der Deckel aufgesetzt und befestigt. Hierauf wurde während einigen Mi-

---

1) Die Ausmaße dieses Apparates waren folgende:
Höhe des Thermostaten 35 cm,
Durchmesser desselben 27 cm,
Achsenlänge *B* 33 cm,
Antriebscheibe-Durchmesser 7 cm,
Durchmesser der Scheiben 4 cm,
Entfernung der Scheiben 10,5 cm,
Länge der Büchse *A* 15,5 cm,
Durchmesser der Büchse *A* 12 cm.

2) Die Länge der Ketten war derartig, daß die Büchse *A* 7 cm vom Boden des Thermostaten entfernt blieb.

nuten Dampf hindurchgetrieben mittels der beiden Hähnchen *b*. Nach Verschließung der Hähnchen und nachdem die Büchse gewogen worden war, wurde sie in den Ketten aufgehängt und der Apparat in Drehung versetzt. Die Temperatur im Thermostaten schwankte zwischen 95—100° C. Hatte die Büchse durch unvollkommene Verschließung an Gewicht verloren, so wurde jedesmal von neuem Dampf durchgetrieben. Diese Behandlung wurde 20 Tage fortgesetzt und alsdann die Büchse geöffnet. Das Heu war vollständig schwarz geworden, hatte den eigentümlichen Geruch der Selbsterhitzung und reagierte stark sauer. Die Analyse dieses Heues und eine Probe des ursprünglichen Heues zeigte folgende Zusammensetzungen:

	Behandeltes Heu	Normales Heu
Asche	12,2 %	9,8 %
Eiweiß	8,3 „	7,5 „
Pentosane	8,9 „	22,6 „
Rohfaser	55,7 „	26,6 „
Rohfett	4,1 „	3,0 „
Stickstofffreie Extraktstoffe	10,8 „	30,5 „

Gleich wie bei der natürlichen Selbsterhitzung geht aus der Vergleichung beider Analysen hervor, daß der Asche-, Eiweiß-, Rohfaser- und Rohfettgehalt gestiegen ist, während der Pentosangehalt und die stickstofffreien Extraktstoffe stark zurückgegangen sind.

Auf eins wollen wir noch hinweisen, nämlich daß, während der Aschegehalt zugenommen hat mit 2,4 Proz. in der Trockensubstanz oder etwa 25 Proz. des ursprünglichen Aschegehalts, der Rohfasergehalt mit 29 Proz. in der Trockensubstanz oder mit 109 Proz. des ursprünglichen Gehalts steigt. Hieraus geht hervor, daß bei der Selbsterhitzung Zersetzungen stattfinden, infolge welcher Körper auftreten, welche nicht durch verdünnte Lauge oder Säure in Lösung gebracht werden können und also bei der Analyse als Rohfaser in Betracht kommen.

Ein Teil des Heues, in einem Kolben mit Wasser destilliert, gibt ein saures Destillat. Dieses Destillat, mit Natronlauge neutralisiert, gibt bei Verdampfung im Wasserbade einen Rückstand, welcher fähig ist, Silber aus salpetersaurem Silber bei Erhitzung zu präzipitieren. Die Säure ist also Ameisensäure [1]). Auch in dieser Hinsicht zeigt dieses Kunstprodukt wieder seine Aehnlichkeit mit dem der Selbsterhitzung ausgesetzten Heu. Eine dritte Aehnlichkeit ist die, daß ein mikroskopischer Schnitt ganz und gar dasselbe Bild gibt; daß also auch hier die Zellwände unangegriffen bleiben, während das Protoplasma schwarz gefärbt ist.

Verwendet man anstatt gewöhnlichen Heues im Autoklaven bei 120° C sterilisiertes Heu, so treten dieselben Erscheinungen auf. Da, wie schon gesagt, die Temperatur der Erhitzung 95—100° C beträgt, so ist ein biologischer Prozeß, sei er bakteriellen oder physiologischen Ursprungs, vollständig ausgeschlossen. Aus allen diesen Tatsachen kommen wir zu der Schlußfolgerung, daß die

1) Ein Uebelstand des Dampfdurchtreibens ist, daß man die Ameisensäure jedesmal teilweise austreibt. Wir haben umsonst versucht, diesen Uebelstand zu umgehen.

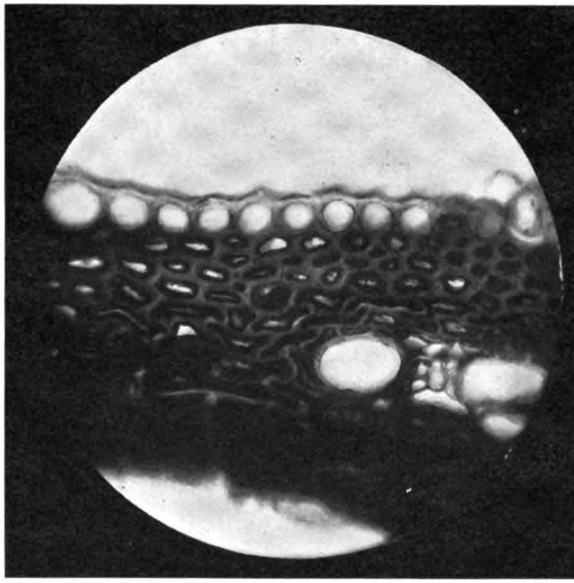


Fig. 1. Querschnitt eines Grasstengels aus selbsterhitztem Heu. 400 fache Vergrößerung.

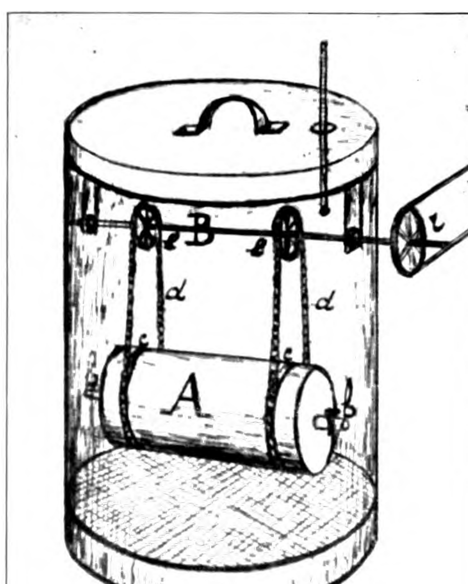


Fig. 2. Apparat zur Nachahmung des Prozesses der Selbsterhitzung.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Selbsterhitzung des Heues nicht verursacht werden kann durch Bakterien, wie bis jetzt die allgemeine Auffassung war, sondern daß es ein chemischer Prozeß ist. Die Wärmeentwickelung, welche man dabei konstatiert, muß also von chemischen Einwirkungen herrühren [1]). Welche Stoffe aber aufeinander einwirken, ist schwer zu bestimmen und wird vorläufig wohl unerklärt bleiben. Zwar sehen wir Pentosane und stickstofffreie Extraktstoffe verschwinden, aber das Agens, welches diese Stoffe zersetzt, steht noch im Dunkeln. Auch die Notwendigkeit des Wassers bedarf einer näheren Aufklärung, und zwar gibt sie Veranlassung zu mancherlei philosophischen Betrachtungen, an die wir uns aber nicht heranwagen wollen. Ganz aufgeklärt ist die Selbsterhitzung also noch nicht, aber jedenfalls ist gezeigt worden, daß sie auf eine chemische Wirkung zurückzuführen ist. Der unmittelbare Beweis, daß sterilisiertes Heu ebenfalls der Selbsterhitzung unterworfen sein kann, haben wir wohl nicht geliefert, aber die Schwierigkeiten, welche mit einem solchen Versuche verbunden sind, wie Sterilisieren und Sterilisierthalten einiger Tausend Kilogramme Heu, sind derartig, daß sie nicht übernommen werden können mit den uns zur Verfügung stehenden Mitteln.

Wir wollen nicht abschließen, ohne darauf hinzuweisen, daß es uns vorkommt, als ob mancher Prozeß, welcher bisher als eine Folge der Bakterientätigkeit oder Enzymwirkung betrachtet wird, in Zukunft sich als ein rein chemischer zeigen wird. So unter anderem die Tabaksfermentation.

Beiträge zur Kenntnis der Eisenbakterien.

Von Dr. **B. Schorler,** Dresden.

Die vorliegende Arbeit bringt die wissenschaftlichen Resultate aus einem Gutachten, das der Verf. im Auftrage des Rates der Stadt Dresden über das Vorkommen der Crenothrix in den Dresdner Wasserwerken zu erstatten hatte. Die dazu notwendigen Untersuchungen beschränkten sich jedoch nicht auf die Dresdner Verhältnisse allein, sondern wurden des Vergleichs wegen noch auf verschiedene andere Wasserwerke des Elbtales von Pirna bis Meißen ausgedehnt. Es kommen also in diesen Beiträgen nur Eisenbakterien in Frage, welche in den Dunkelräumen jener Werke auftreten. Bekanntlich können diese hier in großen Mengen sich ansiedeln und wahre Kalamitäten verursachen. Sie sind daher für den Haushalt des Menschen die wichtigsten. Da ein rechtzeitiges Erkennen der durch die üppige Wucherung der Eisenbakterien für die Leitungen erwachsenden Gefahr von größtem Werte ist, so sei zunächst eine einfache Methode angegeben, nach welcher man jeden Brunnen und Wasserbehälter leicht untersuchen und das Vorkom-

1) Es versteht sich, daß je nachdem die Temperatur des Heues steigt, auch die Reaktion an Intensität gewinnt. Demzufolge entsteht wiederum eine größere Wärmeentwickelung. Kurz gefaßt, würde man sagen können, daß die Reaktion und die Wärmeentwickelung Funktionen von einander seien.

men auch der geringsten Spuren von Crenothrix und ihren Verwandten sicher erkennen kann.

Die Crenothrix ist eine festsitzende Pflanze, die sich in den Brunnen zuerst auf dem Brunnenboden einstellt und hier bereits eine üppige Vegetation bilden kann, noch ehe von ihr etwas zu bemerken ist. Mit den üblichen Probenentnahmen für bakteriologische Wasseruntersuchung ist daher ihr gegenüber nichts zu machen. Ihre Keime mischen sich zwar dem Wasser bei, aber bis jetzt ist es meines Wissens noch nicht geglückt, sie auf den gewöhnlichen Nährböden zur Entwickelung und dadurch zum Nachweis zu bringen. Verf. benutzte daher, um vor allem Bodenproben zu bekommen, einen sogenannten Grund- oder Schlammschöpfer, wie er zum Sammeln von Diatomeen und anderen Bodenalgen seit langem in Gebrauch ist[1]). Es ist ein starker Messingbecher von 12 cm Höhe und 5 cm lichter Weite mit oben etwas auswärts gebogenem scharfen Rande. Der Becher hängt nicht direkt an der Senkschnur, sondern trägt vor seiner Oeffnung mittels zweier 25 cm langer Kettchen eine eiserne Kugel, an der erst die Schnur befestigt ist. Die schwere Kugel hat den Zweck, den Becher im Wasser umzulegen und ihn beim Ziehen über den Boden in horizontaler Lage zu halten. Diesen Schlammschöpfer läßt man an einer genügend langen Schnur in den Brunnenschacht bis auf den Boden hinab und sucht ihn dann hin und her zu ziehen. Das geht bei seichten Brunnen sehr leicht, bei tieferen, verdeckten und nur mit einem engen Einsteigeloch versehenen Brunnen aber, wie sie größere Werke zumeist aufweisen, macht sich das Schleifen des Bechers auf dem Boden schwieriger. Kann man nicht in den Brunnen einsteigen und die Führung der Schnur übernehmen, so tut ein längerer Ausziehstock mit einem aufgeschraubten Ring, durch den man die Schnur führt und dirigiert, gute Dienste. Ein gewöhnlicher Rechen leistet schließlich dasselbe. Hat man den Becher an der einen Seite des Brunnenschachtes versenkt, so drückt man mit dem Stock oder Rechen die Senkschnur an die gegenüberliegende Seite und zieht ihn wieder langsam heraus. Dann wird der Becher in den meisten Fällen Bodenbestandteile, je nachdem Geröll, Sand oder Schlamm enthalten, die nun zur mikroskopischen Untersuchung gelangen müssen. Um bei der Probeentnahme aus mehreren Brunnen einer Verschleppung der Crenothrix durch den Schlammschöpfer vorzubeugen, muß dieser jedesmal sterilisiert werden. Das kann am einfachsten durch kochendes Wasser geschehen oder, wo solches fehlt, durch Formalinlösung.

Crenothrix polyspora Cohn.

Wenn Crenothrix in üppiger Vegetation auf dem Boden des Brunnens wuchert, befördert der Grundschöpfer einen lockeren, fast wollig-zottigen Schlamm von gelb- und graubrauner oder dunkelbrauner, ja fast schwarzer Farbe empor. Im ersteren Falle

1) Das Institut für Mikroskopie von E. Thum in Leipzig, Johannisallee 3, liefert diese Schöpfer in verschiedenen Größen im Preise von 5—8 M.

sieht man auch einzelne grauweiße Flocken unter den hellbraunen Massen, in letzterem Falle fehlen sie völlig. Diese recht verschiedenen Farben für die Anhäufungen eines und desselben Organismus sind höchst merkwürdig und in der Oekologie unserer Fadenbakterie begründet.

Untersucht man die grauen Flocken unter dem Mikroskop bei stärkerer Vergrößerung, so erhält man das typische Bild der Crenothrix, wie es seit Cohn in den Büchern gewöhnlich gezeichnet ist. Farblose, unverzweigte Fäden, die nach dem freien Ende zu allmählich dicker werden, und hier in reicher Menge die kleinen, kugeligen Gonidien enthalten. Dazwischen zahlreiche Haufen von ausgetretenen Gonidien, die zusammenhängende Zooglöen bilden. Diejenigen Fäden, welche keine Gonidienbildung aufweisen, sind gleichmäßig dick und enthalten Zellen, die bis 2mal so lang als breit sein können, öfters aber breiter als lang sind. Die gonidienbildenden Fäden traf ich in verschiedenen Wasserwerken am häufigsten im April an. Ob auch anderwärts Crenothrix zu gewissen Zeiten eine intensivere Wachstums- und Vermehrungsperiode zeigt, konnte ich aus der mir zugängigen Literatur nicht genau feststellen. Nur Zopf erwähnt, daß die braunen eisenhaltigen Fäden mit ihren dicken, undurchsichtigen Scheiden, welche er als winterliche Dauerzustände ansieht, im Frühjahr zu farblosen Fäden in üppigster Weise auswachsen. Jedenfalls ist dieser Punkt weiterer Beachtung wert, besonders im Hinblick auf die anzuwendenden Vertilgungsmaßregeln.

Die Fäden sind, wie schon erwähnt, farblos. Wendet man jedoch das von Cohn und Molisch angegebene Verfahren zum Nachweis des Eisens an, nämlich die Behandlung mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure, so tritt auch bei diesen farblosen Fäden eine schwache Blaufärbung auf.

In den hellbraunen Massen finden sich viele durch Eisenhydroxydeinlagerung gelb bis braun gefärbte Fäden neben farblosen. Oder die Fäden sind an der Spitze farblos und weiter abwärts deutlich gelb gefärbt. Wie schon Cohn feststellte, sind die gefärbten Fäden demnach die älteren.

In den dunkelbraunen und schwarzen Massen treten die farblosen Fäden stark zurück und die gonidienbildenden fehlen meist ganz. Auffällig ist an den intensiv braun gefärbten Fäden ihre verhältnismäßig bedeutende Dicke. Und nach den Bakterienzellen im Inneren sucht man vergebens, es sind meist nur leere Scheiden, die die schwarzen Massen bilden. Ueber die Natur der Farbstoffe oder der Einlagerungen in den Scheiden haben die Untersuchungen der letzten Jahre einiges Licht verbreitet. Während man sie früher ausschließlich für Eisenoxydhydrat hielt, haben namentlich chemische Analysen des durch die Crenothrix gebildeten Absatzes ergeben, daß hier Manganoxyd öfters eine weit wichtigere Rolle spielt. Bereits im Jahre 1892 schreibt Molisch[1]): „Von Interesse ist die Tatsache, daß die Eisenbakterien auch eine

1) Molisch, H., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892. p. 71.

auffallende Anziehung für gewisse lösliche Manganverbindungen bekunden. Fügt man zu dem (Winogradskyschen) Heukulturversuch anstatt Eisenoxydhydrat das entsprechende Hydroxyd des Mangans hinzu, so speichern die Bakterien in ihren Gallertscheiden so viel Manganoxyd, daß die Breite der Fäden auf 5—10 μ und darüber ansteigen kann. Die Gallerte ist mächtig entwickelt und infolge des eingelagerten Manganoxyds tiefbraun gefärbt. Das Mangan spielt in diesem Falle offenbar dieselbe Rolle wie das Eisen. Das Eisen wird hier durch das Mangan vertreten."

Neuere Untersuchungen haben diese Tatsache überall bestätigt. So fand Jackson[1]) in den Scheiden der Crenothrix 33,9 Proz. Manganoxyd (Mn_2O_3) gegen 14,4 Proz. Eisenoxyd (Fe_2O_3). Und die Analysen, welche das Chemische Untersuchungsamt der Stadt Dresden[2]) von dem dunkelbraunen Crenothrix-Schlamm aus den Brunnen und dem Hochbehälter des Tolkewitzer Wasserwerkes machte, führten zu ganz ähnlichen Resultaten. Während der Eisengehalt (Fe_2O_3) der Scheiden von 5,85—8,94 Proz. schwankt, erreicht ihr Mangangehalt (Mn_3O_4) 30,49—66,59 Proz. Das Verhältnis von Eisen zu Mangan in den Brunnen ist 1 : 4 bis 1 : 5, in dem Hochbehälter jedoch steigert sich der Mangangehalt um mehr als das Doppelte, hier ist das Verhältnis von Eisen zu Mangan 1 : 11.

Jackson hat auf Grund der Tatsache der Manganabscheidung eine neue Art, nämlich die Crenothrix manganifera, aufgestellt. Ich halte diese Aufstellung nicht für berechtigt. Das einzige morphologische Unterscheidungsmerkmal von der Cr. polyspora ist die größere Dicke der Fäden resp. der Scheiden. Nun ist aber bekannt, daß die äußere Membranschicht der Bakterienzelle, je nach der Natur des Nährbodens, eine recht verschiedene Quellbarkeit besitzt und dadurch bei derselben Art dicker oder dünner werden kann. „Bei demselben Organismus (Leuconostoc) erreicht diese gallertartige Hülle in Zuckerlösungen einen Durchmesser, der denjenigen der Zelle selbst bis um das 20fache übertrifft, während sie bei Kulturen auf zuckerfreiem Agar kaum zu bemerken ist" (Migula). Man kann die Cr. manganifera Jacks. nicht einmal als besondere physiologische oder „biologische Rasse" der Cr. polyspora ansehen. Denn neuerdings hat Adler[3]) nachgewiesen, daß auch die den Flagellaten zugehörige Tierspecies, die Antophysa vegetans, welche in ihren Gallertstielen Eisen aufspeichert, das Eisen durch Mangan ersetzen kann, wobei ebenfalls, wie bei der Crenothrix, eine beträchtliche Verdickung der Stiele eintritt. In der Eisenlösung betrug die Breite der Stiele 20,7 μ, in der Mangankultur dagegen 59,8 μ. Es ist mir nicht zweifelhaft, daß Stiele, die erst in Eisenlösung wuchsen

1) Jackson, D., A new species of Crenothrix. (Transact. of the amer. microscop. society. Vol. XXIII. 1902.)

2) Beythien, Hempel und Kraft, Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von Crenothrix polyspora in Brunnenwässern. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 1904. Heft 4.)

3) Adler, O., Ueber Eisenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903.)

und Eisen speicherten, beim Ueberführen in Manganlösung nun dieses ablagern. Wenn demnach zwei so verschiedene Organismen unter den gleichen äußeren Bedingungen die gleichen Veränderungen zeigen, so kann das doch nur der Einwirkung der gleichen Lösung zugeschrieben werden und nicht in einer besonderen Fähigkeit der Cr. manganifera begründet sein. Man müßte dann auch die Crenothrix-Fäden, welche frei von Eisen sind, als spezifisch verschieden von denen mit Eiseneinlagerung betrachten.

Auf Erörterungen über die Ursachen der Eisen- oder Manganspeicherung will ich mich hier nicht näher einlassen. Diese Fragen dürften sich erst einwandfrei beantworten lassen, wenn unsere Kenntnisse über das Wachstum der pflanzlichen Membran überhaupt und das der Bakterienzellen mit ihren eigentümlichen Quellungserscheinungen im besonderen befriedigendere sein werden wie jetzt. Doch will ich nicht unterlassen, nochmals auf die Tatsache hinzuweisen, daß in den Dresdner Wasserwerken die Crenothrix, obwohl ihr sowohl Eisen- wie Manganlösung zu Gebote stehen, doch die letztere bevorzugt und größere Mengen davon aufspeichert. So sind nach den Untersuchungen des Chemischen Untersuchungsamtes der Stadt Dresden in dem Tolkewitzer Wasserwerk, in dem die Crenothrix in üppigster Vegetation wuchert, in 1 l Wasser enthalten 0,12—0,42 mg (im Durchschnitt aus 11 Analysen 0,20 mg) Eisen und 0—1,150 mg (im Durchschnitt 0,314 mg) Mangan. Trotzdem ist der Mangangehalt der Scheiden in den Brunnen 4—5 und in dem Hochbehälter sogar 11mal so groß wie der des Eisens. Und in dem Saloppenwasserwerk, das ebenfalls Crenothrix, wenn auch nur in geringerer Menge, beherbergt, ist Mangan nur in quantitativ nicht nachweisbaren Spuren vorhanden, während der Eisengehalt zwischen 0,20—0,30 mg pro Liter schwankt. Und doch erzeugt auch hier die Crenothrix den schwarzen Schlammabsatz, der für die manganführenden Scheiden so charakteristisch ist.

Ein recht abweichendes Aussehen zeigte Crenothrix in den neuangelegten Versuchsbrunnen zu einem dritten Wasserwerke der Stadt Dresden unterhalb des Dorfes Hosterwitz an der Elbe. Die Brunnen waren mit verschiedenen Bohrlöchern, etwa 1 Jahr vor meiner Untersuchung, angelegt worden und wurden eben behufs Feststellung der von ihnen gelieferten Wassermengen stark abgepumpt. Der Schlammschöpfer förderte einen graugelben, sandiglehmigen Bodenschlamm zu Tage, der beim Absetzen in der Probeflasche eine sehr feinkörnige, fast schleimige oberste Schicht lieferte. Bei der mikroskopischen Untersuchung der letzteren fanden sich unter den vielen kleinen und kleinsten anorganischen Körnchen vereinzelte farblose, etwas gekrümmte, 2—300 μ lange Fäden von fast wurmförmigem Aussehen. Ihre Dicke betrug bis 15 μ. Die äußeren Konturen waren wenig scharf, meist verschwommen. Im Inneren der Fäden zog sich ein deutlich wahrnehmbarer, ca. 2 μ dicker Kanal von dem einen abgerundeten Ende zum anderen, der aber keinerlei Inhalt aufwies. Bei sehr starker Vergrößerung ließ sich eine feine, aber spärliche Körnelung erkennen. Erst

nachdem ich nach langem Suchen auch einige braune Fadenstücke von gleichem Bau aufgefunden hatte, wurde mir die Gewißheit, daß diese farblosen, dicken Fäden, trotz ihres recht abweichenden Aussehens, der Crenothrix polyspora angehörten. An einem einzigen Faden sah ich die farblose Gallertscheide in verschiedene Partieen zerbrochen, wie es bei braunen, durch Eisen- oder Mangan-einlagerung spröden Scheiden sehr häufig vorkommt. Da die Gallertscheide nur durch eine solche Einlagerung brüchig geworden sein konnte, so mußte diese offenbar in jenem Faden durch Auflösung in kohlensäurehaltigem Wasser wieder verloren gegangen sein. Es ist nun sehr wahrscheinlich, daß auch die anderen farblosen Fäden ihr vom normalen Typus so abweichendes Aussehen durch diesen chemischen Prozeß erlangt haben. Dann wären das also ganz alte Scheiden. Ich habe sie vom 20. Oktober bis 14. November 1903 in den Brunnen ganz unverändert gefunden. Und eine Probeflasche, die ich in einem ungeheizten Zimmer während des Winters aufbewahrt habe, enthielt sie noch am 6. Mai dieses Jahres in ganz dem gleichen Zustande.

Das Vorkommen der Crenothrix in den von mir untersuchten 7 Wasserwerken ist auf solche beschränkt, deren Brunnen in der Nähe der Elbe und in deren Ueberschwemmungsbereich liegen. Am üppigsten wuchert sie in dem Tolkewitzer, weniger massig in dem Saloppenwasserwerk, beide zur Wasserversorgung der Stadt Dresden gehörig, und in dem ersten Wasserwerk der Stadt Meißen. Die Brunnen dieser drei Werke liegen sämtlich in den an den Elbstrom grenzenden Wiesen und werden bei Hochwasser überschwemmt. Aehnlich liegen die Verhältnisse bei den neu angelegten Versuchsbrunnen des dritten Dresdener Wasserwerkes unterhalb Hosterwitz. Auch hier konnte Crenothrix nachgewiesen werden, obgleich die Brunnen erst etwa 1 Jahr bestanden. Die Fäden finden sich allerdings in den letzteren nur ganz vereinzelt und in Form von alten, ausgelaugten Scheiden, die offenbar durch die Saugwirkung der Pumpen aus dem Boden eingeschlemmt worden sind. Mit diesen Scheiden gelangen sicher auch lebende Sporen aus dem Boden in die Brunnen. Ich habe nach dem Winogradskyschen Rezept Kulturen angelegt und auch bei Anwendung von destilliertem Wasser nach Zusatz von Bodenschlamm aus den Versuchsbrunnen stets Eisenbakterien erhalten. Ich nehme also an, daß Crenothrix in die Brunnen im Ueberschwemmungsbereich der Elbe schon sehr zeitig gelangt. Nun besteht das Tolkewitzer Wasserwerk seit 1898, das Saloppenwerk seit 1875 und das erste Wasserwerk in Meißen seit 1893. In dem ersten Werk macht sich Crenothrix seit 1902, also 4 Jahre nach der Inbetriebnahme, unangenehm bemerkbar. In dem zweiten ist sie erst durch meine Untersuchungen Ende des vorigen Jahres festgestellt worden, ohne bisher irgend welche Uebelstände zu verursachen. Das Gleiche gilt von dem Meißener Werk, obwohl hier schon die starke Bildung des Crenothrix-Schlammes im Hochbehälter aufgefallen, aber nicht weiter beachtet resp. anders gedeutet worden war. Es gebraucht dieser Schädling also in den

einzelnen Werken sehr ungleich lange Zeiten, um sich zu einer wirklichen Kalamität zu entwickeln. Da liegt es nun nahe, anzunehmen, daß der verschiedene Gehalt des Wassers an gelösten Nährstoffen die größere oder geringere Ueppigkeit der Vegetation bedingt. Organische Substanz, Eisen und Mangan kommen da in erster Linie in Frage. Die von dem städtischen chemischen Untersuchungsamte ausgeführten Analysen haben nun ergeben, daß die organische Substanz im Saloppenwasser etwas größer ist als im Tolkewitzer Wasser (1,8 mg Sauerstoffverbrauch pro 1 l Wasser gegen 1,5 mg), daß der Eisengehalt in ersterem zwischen 0,20—0,30 mg und in letzterem zwischen 0,16—0,42 mg pro 1 l schwankt, also in beiden Fällen ungefähr gleich ist und der Gehalt an Mangan endlich im Saloppenwasser quantitativ nicht nachweisbar ist, dagegen in Tolkewitz bis 1,150 mg ansteigt. Nach diesem Ergebnis der Analysen scheint die Annahme berechtigt, daß nur der höhere Mangangehalt die rasche und üppige Wucherung der Crenothrix in Tolkewitz verursacht hat.

Gegen diese Annahme spricht aber meines Erachtens die Lebensgeschichte der Art und vor allem ihre Vermehrungsweise. Das üppigste Wachstum trifft man bei jungen, farblosen Fäden. Solche zeigen auch nur die charakteristischen, keulenförmig verdickten Enden, in denen zu Hunderten die kleinen, kugeligen Gonidien sich bilden. Ich habe diese niemals in gelb- oder braunbescheideten Fäden gesehen. Nun kann zwar jede Zelle in der Scheide durch Ausschlüpfen aus dieser zu einem neuen Faden auswachsen, aber eine viel stärkere Vermehrung muß doch durch die Tausende der kleinen Gonidien eintreten.

Ich habe am 15. Mai 1903 aus einem Brunnen des Tolkowitzer Werkes eine Wasserprobe mit zahlreichen weißen Flocken erhalten, die im Brunnen frei schwammen oder der Wand ansaßen. Sie bildeten schließlich in der Flasche einen 10 ccm fassenden flockigen Absatz von weißer Farbe und bestanden ausschließlich aus jungen Fäden mit farblosen Scheiden, also ohne alle Einlagerung von Eisen oder Mangan. Gonidienführende breite Scheiden waren sehr reichlich vorhanden. Verschiedene von ihnen hatten ihren Inhalt bereits entleert und dieser bildete gelatinöse Zooglöen zwischen den Fäden. Wir haben hier also eine üppige Crenothrix-Vegetation in stärkster Vermehrung, die dazu weder Eisen noch Mangan nötig hat. Organische Substanz ist aber in diesem Stadium zum Aufbau der neuen Zellen und Gonidien unbedingt erforderlich. Wenn also in der Hauptentwickelungszeit Eisen und Mangan entbehrlich sind, so kann der größere Mangangehalt des Wassers allein für die rasche Entwickelung der Crenothrix in Tolkowitz nicht gut herangezogen werden. Ist die Zeit des lebhaftesten Wachstums und der Gonidienbildung vorüber, so hüllen sich die Fäden in ihre Schutzhüllen aus Eisen- oder Manganoxyd, gehen also gleichsam in Dauerzustände über, wie schon Zopf betont. Dann erst treten die beiden Metalle in ihre Rechte. Diese Dauerzustände scheinen allerdings notwendige Phasen des Entwickelungscyklus zu sein, ohne welche Crenothrix auf die

Dauer nicht existieren kann. Warum nun in manchen Fällen das Mangan dem Eisen vorgezogen wird, wie in den beiden Dresdener Wasserwerken, entzieht sich noch unserer Kenntnis. In dem ersten Meißener Wasserwerk, das ja durch den Grundwasserstrom der Elbe gespeist wird, begnügt sich die Crenothrix mit dem Eisen. Es stehen mir zwar keine Analysen von dem dortigen Wasser und dem Crenothrix-Niederschlag zur Verfügung, aber das graubraune Aussehen des Schlammes deutet mir auf Eiseneinlagerung in den Scheiden hin.

In den anderen untersuchten Wasserwerken findet sich, wie schon erwähnt, Crenothrix nicht, obgleich der größte Teil derselben schon seit langer Zeit in Betrieb ist. Von diesen Werken liegen drei, nämlich Blasewitz, Loschwitz und Meißen II, mit ihren Brunnen auch im Elbtal, aber nicht im Ueberschwemmungsbereich der Elbe, sondern an höheren Stellen. Bei ihnen scheinen die von den Seiten, d. h. von den Höhen kommenden Zuflüsse zum Grundwasserstrom der Elbe die Speisung der Brunnen zu versorgen. Die Stadt Pirna wurde bisher ausschließlich durch Quellwasser aus den nördlichen Ausläufern des Elbsandsteingebirges versorgt. Die Quellen werden auf halber Höhe des steilen felsigen, mit Laubwald bewachsenen Elbufers, der Elbleite, abgefangen, zunächst in kleine Quellenstuben und von hier in zwei Hochbehälter geleitet. Doch nirgends findet sich eine Spur von Crenothrix. Im vorigen Jahre hat man jedoch ein neues Wasserwerk angelegt mit einem Brunnen in den Elbwiesen, nahe am Flusse. Hier wird sich sicher in Zukunft Crenothrix auch bemerkbar machen.

Fragen wir uns nun einmal, welche Schutzmaßregeln gegen das Auftreten von Crenothrix-Kalamitäten angewandt werden könnten. Für Werke mit Grundwasserversorgung in großen Flußtälern und der Tiefebene werden, meines Erachtens, Einschlemmungen des Schädlings in die Brunnen nicht zu vermeiden sein, ganz unabhängig davon, ob das Werk sehr oder wenig in Anspruch genommen wird. Auch die für das Weiterwachsen der Crenothrix nötigen Ernährungsbedingungen wird das Grundwasser überall aufweisen, nur daß es in dem einen Falle ein üppiges, in dem anderen ein weniger üppiges Gedeihen gestattet. Reinigungs-, z. B. Filter- und Enteisenungsanlagen, werden bei nährstoffreichem Wasser die Entwickelungsintensität zwar stark herab-, aber nicht völlig unterdrücken. Bei einem so vorzüglichen Grundwasser wie dem Dresdener [1]) dürften solche ganz zwecklos sein. Um nun hier Crenothrix nicht zur Kalamität sich auswachsen zu lassen, erscheint mir ein öfter wiederholtes Entfernen des Crenothrix-Schlammes auf dem Brunnenboden das beste und einfachste Mittel zu sein. Das kann durch Absaugen mittelst Pumpen oder durch Ausbaggern geschehen. Dadurch werden nicht nur die Keime, sondern auch die organische Substanz der Fäden und die eisen- oder manganhaltigen Scheiden entfernt. Kann man dann noch die

1) S. die Analysen des chemischen Untersuchungsamtes in Beythien, Hempel und Kraft l. c. p. 216 u. ff.

betreffenden Brunnen kalken, so würde die Reinigung durch das Abtöten der etwa noch vorhandenen Keime um so gründlicher sein. Ist schon das Rohrnetz infiziert, so muß auch dieses mechanisch gereinigt werden. Dazu gibt es ja jetzt glücklicherweise auch die nötigen Apparate. Und so glaube ich, daß die „Brunnenpest" heutigen Tages tatsächlich nicht mehr das Schreckgespenst früherer Jahrzehnte ist.

Clonothrix fusca n. g. n. sp.

Unsere Kenntnisse über die Systematik der Eisenbakterien sind noch recht wenig befriedigende. Die einzelnen Arten werden noch heute von verschiedenen Forschern von der einen Gattung in die andere geworfen, häufig unter vollständiger Mißachtung der ursprünglich gegebenen Gattungsdiagnose. So wird z. B. Crenothrix polyspora sogar der Beggiatoa beigezählt (Gasperini) und Leptothrix ochracea wieder der Crenothrix als Art zugerechnet (Jackson). Erst Migula hat in seinem System der Bakterien einigermaßen Ordnung geschaffen. Aber über die verzweigten Formen der Eisenbakterien herrscht auch nach Migula noch immer große Unklarheit. So schreibt dieser Forscher [1]) selbst von Cladothrix dichotoma: „Indessen glaube ich, nach einer langjährigen Beobachtung dieser Organismen, annehmen zu dürfen, daß das, was wir jetzt als Cladothrix dichotoma bezeichnen, eine Sammelspecies ist und wenigstens 3 verschiedene Arten umfaßt, die auch in ihrem physiologischen Verhalten durchaus verschieden sind. Zwei Arten davon sind z. B. entschieden keine Eisenbakterien und, obwohl morphologisch und entwickelungsgeschichtlich sehr ähnlich, doch sofort durch die viel zarteren Scheiden, die auch in eisenhaltigen Wässern sich nicht färben, unterschieden." Die wahre Cladothrix dichotoma Cohn ist nach Migula keine Eisenbakterie, sie wird im System der Bakterien als Species zu Sphaerotilus gestellt und Sph. dichotomus bezeichnet. „Sie kommt sehr verbreitet in Sumpfwässern zwischen faulenden Algen u. s. w. vor. In Eisenwässern, wie dies hin und wieder angegeben wird, habe ich sie bisher nicht besonders reichlich beobachtet" [2]).

Bei meinen Untersuchungen der hiesigen Wasserwerke traf ich nun zuerst in dem Saloppenwasserwerk und später auch in dem Meißener Wasserwerk I deutlich verzweigte Eisenbakterien in großer Menge, die ich ursprünglich für Cladothrix dichotoma hielt. Bei eingehenderem Studium aber zeigte sich, daß diese Formen unmöglich dieser Gattung zugezählt werden können, wie die folgende Beschreibung lehrt. Sie stehen im Gegenteil ihrem ganzen morphologischen Aufbau nach der unverzweigten Crenothrix viel näher, unterscheiden sich von dieser aber scharf durch die Verzweigung. Will man also die Gattungs-

1) Migula, W., System der Bakterien. Bd. I. 1897. Bd. II. 1900. Jena, Fischer. Bd. I. p. 350.
2) Ebenda. Bd. II. p. 1036.

diagnose von Crenothrix in ihrer ursprünglichen Fassung beibehalten, so muß man für diese Formen eine neue Gattung aufstellen. Ich habe diese Clonothrix (von clon: Zweig und thrix: Haar) genannt, um die nahe Verwandtschaft sowohl mit Crenothrix als auch mit Cladothrix anzudeuten.

Die einzelnen kurzen Fadenbruchstücke machen ganz den Eindruck eines Crenothrix-Fadens. Sie sind mit einer Scheide versehen, die an jungen Fäden dünn und farblos ist, an älteren dagegen durch Einlagerungen von Eisen- oder Mangan gelb- bis schokoladebraun gefärbt erscheint. Dabei wechselt nach der Einlagerung die Dicke außerordentlich. Junge Fäden sind nur ca. 2—3 μ dick, ältere durchschnittlich 5—7 μ und solche, die Mangan gespeichert haben, können die bedeutende Dicke von 24 μ erlangen. Die Fäden sind, wie schon erwähnt, verzweigt, und zwar nicht immer dichotom wie bei Cladothrix. Ich sah auch einige Mal 3 Zweige an einer Stelle abgehen. Die Verzweigungen sind keineswegs selten und liegen an manchen Stellen dicht übereinander. Oft lassen sich die Zweige entweder nach ihrer Richtung oder nach ihrer geringeren Dicke deutlich vom Hauptfaden unterscheiden. An anderen Fäden ist dies wieder nicht der Fall. Dann sind sie an ihrem basalen Ende ebenso dick wie der Hauptfaden und kurze Zweige werden nach oben allmählich dünner, weil die Scheide sich noch nicht zu ihrer vollen Dicke entwickelt hat. Hierbei wechselt auch die Farbe am Zweige von braun bis farblos. Die Zweige dürften ganz ähnlich wie bei Cladothrix entstehen. Als größte Länge eines solchen verzweigten Fadens maß ich 2,5 mm.

An der Stelle der Verzweigung ist die Gallertscheide zuweilen etwas dicker als über oder unter derselben. Dadurch kommen hier knollenförmige Anschwellungen zu stande. Einmal beobachtete ich auch, daß ein unterer Zweig nach kurzem Verlauf sich an einen oberen anlegte und sich durch die Gallertscheide mit ihm zu einem Doppelfaden verband.

Die verzweigten Fäden färben sich bei Behandlung mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure rasch und intensiv blau, sofern sie Eisen in den Scheiden gespeichert haben. Nur die dunkelbraunen Scheidenstücke bleiben lange Zeit braun. Endlich aber hebt auch bei ihnen die Blaufärbung an dem äußersten dünnen Saume an und schließlich werden auch sie intensiv blau.

Die Stäbchen oder Zellen in den Fäden sind lang oder kurz, cylindrisch bis flach scheibenförmig, bei einer Dicke von ca. 2 μ. Die Länge der Zellen wechselt stark, bei scheibenförmigen Zellen ist sie natürlich kleiner als die Dicke, sonst übertrifft gewöhnlich die Länge die Dicke um das 3—4fache, zuweilen aber auch um das 6—8fache. Einmal habe ich einen farblosen Faden beobachtet, der 20 μ lange und 2,5 μ dicke Stäbchen aufwies. Gewöhnlich sind die Zellen eines Zweiges mit denen im Hauptfaden gleichgestaltet. Es kommt aber auch gar nicht selten vor, daß der Hauptfaden z. B. aus scheibenförmigen Zellen besteht und der davon abgehende Zweig aus kurzcylindrischen. Stets sind die

Zellen schon ohne Behandlung mit Salzsäure in den Scheiden deutlich wahrnehmbar. Sie vermögen aber auch aus den letzteren auszuschlüpfen, so daß leere Scheiden, wie bei Crenothrix, in den Absätzen sehr häufig sind.

Jede der ausschlüpfenden Zellen kann einen neuen Faden erzeugen. Häufiger scheint jedoch eine andere Vermehrungsart Platz zu greifen. Die flachscheibenförmigen Zellen in kurzen Zweigen gehen nämlich durch Teilung und Abrundung zuweilen in kleine, kugelige Gonidien über, wobei die Teilungsrichtung parallel zur Längsachse des Fadens resp. Zweiges erfolgt. Ich habe diese Gonidien nur an dem oberen Ende verhältnismäßig kurzer Zweige auftreten sehen, wo dieses anfängt, sich zu verschmälern. Die zwei aus einer scheibenförmigen Zelle entstehenden Gonidien liegen unmittelbar nach der Teilung zunächst nebeneinander, dann verschiebt sich die eine etwas nach oben, aber man erkennt noch die zusammengehörigen Stücke und schließlich liegt weiter oben eine hinter der anderen. Dann werden sie einzeln aus der offenen Scheide, welche hier nur wenig dicker ist als der Durchmesser der Gonidie, ca. $1^1/_2$ μ, entleert.

Diese Gonidien sind es besonders, welche in Verbindung mit der dicken eisen- oder manganhaltigen Scheide und den kurzen scheibenförmigen Zellen die Gattung Clonothrix scharf von Cladothrix unterscheiden. Durch die Kulturversuche von Büsgen[1]) sowohl wie von Höflich[2]) wurde übereinstimmend festgestellt, daß Cladothrix niemals derartige kleine, kugelförmige Gonidien oder Mikrokokken bildet, sondern immer nur einzelne langcylindrische Zellen des Fadens, die seitlich unter einem Pol ein Büschel von Geißeln bekommen, als schwärmende Sporen aus dem Faden entläßt. Letztere kommen weder bei Crenothrix noch Clonothrix vor.

Aus der obigen Beschreibung der neuen Gattung und Art ergibt sich nun die folgende Diagnose Clonothrix n. g.: Fäden dichotom oder unregelmäßig verzweigt, festsitzend, mit Gegensatz von Basis und Spitze, nach den freien Enden allmählich dünner werdend. Scheide stets vorhanden, an jungen Fäden dünn, später dicker werdend, und Eisenoxydhydrat oder die entsprechende Manganverbindung speichernd. Zellen cylindrisch bis flachscheibenförmig. Vermehrung durch kleine, unbewegliche Gonidien von kugeliger Form, die durch Längsteilung und Abrundung aus den vegetativen scheibenförmigen Zellen kurzer Zweige hervorgehen, einzeln aus den Spitzen hervortreten und auskeimen. Nur 1 Art:

Cl. fusca n. sp.: Fäden und Aeste von wechselnder Dicke, an der Basis mit der Scheide durchschnittlich 5—7 μ dick und an der Spitze sich auf 2 μ verschmälernd, an alten Scheiden mit Manganeinlagerung sind jedoch sogar 24 μ Breite festgestellt

---

1) Büsgen, M., Kulturversuche mit Cladothrix dichotoma. (Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1894. p. 147.)

2) Höflich, C., Kultur und Entwickelungsgeschichte der Cladothrix dichotoma Cohn. (Diss. Sep.-Abdr. aus d. Oesterr. Monatsschr. f. Tierheilkunde. Bd. XXVI. Wien 1901. No. 1 u. 2.)

worden. Die Farbe der Fäden wechselt je nach dem Alter und den Nährstoffen im Wasser von farblos bis gelb- und dunkelbraun. Die Zellen sind ca. 2 μ dick und gewöhnlich 6—8 μ lang, es kommen aber auch Längen von 12—16 μ, ja sogar von 20 μ vor. Bei scheibenförmigen Zellen ist die Dicke gewöhnlich größer als 2 μ. Die verzweigten Fäden bilden Räschen, die bis zu 2,5 mm lang werden.

Die Räschen bilden in den Dunkelräumen der Wasserwerke, sowohl in den Brunnen wie in den Hochbehältern, grau- bis dunkelbraune und schwarze, lockere, flockige Schlammabsätze, ganz wie Crenothrix und oft in deren Gesellschaft. Bisher nur in einem Wasserwerk von Dresden und Meißen, jedoch sicher weit verbreitet. Alle Angaben, welche Cladothrix unter den Eisenbakterien aufzählen, dürften hierher zu rechnen sein.

Chlamydothrix (Gallionella) ferruginea (Ehrbg.) Mig.

Ueber die Verbreitung dieser Eisenbakterie, deren wahre Natur erst vor einigen Jahren durch Migula[1]) erkannt worden ist, liegen bisher nur sehr wenige Angaben vor. Nach Ehrenberg[2]), ihrem Entdecker, wäre sie sehr verbreitet, denn er schreibt ihr den Hauptanteil bei der Bildung des Raseneisensteins zu. Auch Rabenhorst gibt sie in seiner Kryptogamenflora von Sachsen als verbreitet an. Migula[3]) widerspricht dem, weil die Gallionella „überhaupt nicht sehr verbreitet ist“ und stets nur in geringer Quantität vorkommt. Vor kurzem hat sie jedoch Adler[4]) in den verschiedensten Eisenwässern nachgewiesen. Er schreibt: „Ich habe die Gallionella ferruginea bei der Untersuchung von 41 — meist im Handel befindlichen und zu therapeutischen Zwecken verwendeten — natürlichen Eisenwässern in den abgefüllten Flaschen von 12 Quellen konstant gefunden.“ Auf Grund dieser Funde kommt Adler zu dem Schluß, „daß Gallionella ferruginea ein in der Natur häufig vorkommender und weitverbreiteter Organismus ist.“

Bei meinen Untersuchungen der Wasserwerke des Elbtalkessels habe ich die Gallionella sehr häufig getroffen, und zwar nicht nur in den Brunnen selbst, sondern auch in den Hochbehältern, auf dem linken wie auf dem rechten Elbufer. Sie kommt vor in dem Hochbehälter an der Gasanstalt in Pirna, in dem Blasewitzer Brunnen im Waldpark, in den Tolkewitzer Brunnen und 7 Bohrlöchern, wie auch in dem dazu gehörigen Hochbehälter, in dem Brunnen des 2. Wasserwerkes der Stadt Meißen, und auf dem rechten Ufer in den Brunnen von Loschwitz, des Saloppenwerkes von Dresden und des 1. Wasserwerkes von Meißen.

---

1) Migula, W., Ueber Gallionella ferruginea Ehrbg. (Ber. d. Deutschen botan. Gesellschaft. 1897. p. 321.)

2) Ehrenberg in Poggendorfs Annalen. II. Bd. VIII. 1836.

3) l. c. p. 322.

4) Adler, O., Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. No. 8/9.

Zuerst begegnete mir Gallionella in den neu angelegten Versuchsbrunnen des dritten Dresdener Wasserwerkes. Sie findet sich hier vereinzelt in dem feinen tonig-lehmigen Schlamme des Brunnenbodens, der auch die schon erwähnten alten farblosen Scheiden der Crenothrix beherbergt, in Form von kurzen, rotbraun gefärbten Ketten. Bei starker Vergrößerung erkennt man, daß die Ketten aus zopfartig umeinander geschlungenen Fäden bestehen, die hier stets reichliche Einlagerungen von rostrotem Eisenhydroxyd aufweisen. Die Einlagerung ist oft so stark, daß die Hüllen der beiden Fäden miteinander verwachsen. Dann erkennt man die Kettengliederung auch bei starker Vergrößerung nicht mehr, und der Zopf erweckt den Anschein eines einzigen starken Fadens, welcher äußerlich einem Crenothrix-Faden ähnlich ist, sich aber von diesem durch eine rauhkörnige oder etwas gewellte Oberfläche unterscheidet. Zuweilen täuschen die Zöpfe am Ende eine Verzweigung vor, wenn nämlich der eine Zopfteil länger ist als der andere und seitwärts absteht.

Da die eben beschriebenen Fadenbruchstücke in dem Bodenschlamme fast aller untersuchten Brunnen immer wiederkehrten, aber stets nur vereinzelt und niemals in jungen farblosen Fäden, so vermutete ich, daß sie nur zufällig in den Bodenschlamm gelangt sein mußten, und daß dieser nicht der natürliche Standort der Gallionella sein konnte. Lange aber suchte ich vergebens nach diesem und nach Massenvegetationen der Eisenbakterie an demselben, bis ich zur Untersuchung der engen Bohrlöcher überging, die bei der Anlage des Tolkewitzer Wasserwerkes hergestellt worden und noch heute vorhanden sind. Bei der Entnahme von Bodenproben behufs Feststellung der Crenothrix durch meinen Schlammschöpfer kratzte dieser von dem engen eisernen Rohre des Bohrloches Rostkrusten ab, auf denen ich zu meinem größten Staunen bei der mikroskopischen Untersuchung die so lange vergeblich gesuchten üppigen Gallionella-Vegetationen entdeckte. Junge und alte, farblose oder gelb und rostrot gefärbte Fäden in allen den von Migula dargestellten Formen bilden hier einen orangeroten, leicht abwischbaren oder fester anhaftenden Ueberzug, in dem man keine anderen Organismen und auch nur sehr wenige strukturlose Rostkörner beigemischt findet. Alle die mitgebrachten Krusten zeigten dasselbe Bild. Die einzelnen Fäden sind etwas geschlängelt, die Zöpfe locker oder fester geflochten, zuweilen den Anschein eines schraubig gewundenen Bandes erweckend. Eine innere Gliederung der Fäden konnte ich auch bei Behandlung mit Salzsäure nicht erkennen, eine Gallertscheide an ihnen auch bei Anwendung von Zeiß' Immersionssystem nur sehr selten. Die Fäden, auch die jüngsten, sind vollkommen unbeweglich und färben sich bei Behandlung mit Blutlaugensalz und Salzsäure verschieden; die jungen farblosen Fäden so gut wie gar nicht, die mit wenig Eiseneinlagerung versehenen gelben Fäden intensiv blau, die alten rostroten und rotbraunen Fäden dagegen grün oder blaugrün.

Nachdem ich erst einmal auf den eigentlichen Standort dieser Eisenbakterie aufmerksam geworden war, fand ich ihre Massen-

vegetation an solchen Rostkrusten unter Wasser überall, in den eisernen Röhren der Bohrlöcher, in und an den Saugröhren der Pumpen, an den Maschinenteilen der letzteren selbst, an eisernen Stangen, Gerüsten und Schiebern, kurz, wo nur Eisenteile im Wasser rosteten.

In völliger Reinheit erhält man die Gallionella-Vegetation, wenn man die den Eisenteilen unter Wasser so häufig aufsitzenden knollenförmigen Rostbrocken losbricht und in eine Flasche mit Wasser bringt. Durch das Schütteln des Wassers beim Transport wird der Gallionella-Ueberzug zum Teil abgewaschen und dann bekommt man einen rostroten Schlammabsatz in der Flasche, der sich schon bei unbewaffnetem Auge deutlich von dem gelbbraunen Absatz, wie ihn Leptothrix, und dem grau- bis schokoladebraunen Absatz, wie ihn Crenothrix bildet, durch seine rötliche Färbung unterscheidet. In den tieferen schwarzen Partieen des Rostbrockens läßt sich Gallionella nicht mehr nachweisen.

Das konstante Vorkommen der Gallionella auf den Rostkrusten und -brocken deutet nach meinem Dafürhalten darauf hin, daß diese Eisenbakterie bei der Bildung des Rostes unter Wasser eine sehr wichtige Rolle spielt, und daß das Rosten an solchen Stellen kein rein chemischer Prozeß ist. Es ist bekannt, daß zur Bildung des Eisenhydroxydes neben Wasser auch Kohlensäure und Sauerstoff in demselben nötig sind, daß sich zuerst Ferrobikarbonat und durch Oxydation des Oxyduls Eisenoxydhydrat bilden. Ob nun die Gallionella durch ihren Lebensprozeß schon die Entwickelung des ersten Prozesses beschleunigt, oder ob sie nur durch die Aufnahme des doppeltkohlensauren Eisens und dessen Oxydation in ihrem Körper den zweiten Prozeß hervorruft, müssen erst weitere Versuche lehren. Jedenfalls besteht die Tatsache, daß die äußerste abwischbare Schicht der Rostkrusten und -brocken sich ausschließlich aus den mit Eiseneinlagerungen versehenen organisierten Scheiden der Gallionella zusammensetzt. Und auch die Bildung der oft weit, fast fingerartig aus der ursprünglichen Oberfläche des Eisens hervorragenden Rostbrocken, die sich schwer auf rein chemische Vorgänge zurückführen läßt, wird durch die Mitwirkung der Gallionella ferruginea verständlich. Es sind eben besonders üppig und rasch wachsende Vegetationsherde dieser Bakterie, die man daher als die eigentliche Rostbakterie unter den übrigen Eisenbakterien bezeichnen kann.

Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß die Gallionella auch noch andere Standorte haben kann, wo sie gut gedeiht. So hat sie z. B. Migula einmal in größerer Menge in einem eisenhaltigen Torfwasser bei Trebnitz gefunden. Doch könnte auch hier ein Stück alten Eisens die Grundlage der Gallionella-Wucherung gebildet haben. Migula erwähnt allerdings in seiner Veröffentlichung davon nichts. Das Vorkommen der Rostbakterie in vielen therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern, wie es neuerdings von Adler festgestellt worden ist, dürfte auch ein sekundäres sein. Sie ist wahrscheinlich von eisernen Brunnenteilen

in das betreffende Wasser gelangt. Und wenn v. Raumer[1]) in den eisernen Leitungsröhren einer Wasserversorgungsanlage harte Krusten von rotbrauner Farbe und einem hohen Eisenoxydgehalt, in den Bleiröhren derselben Anlage dagegen schwarze sametweiche Absätze mit einem großen Gehalt an Manganoxyduloxyd fand, so dürften in den letzteren Crenothrix-, in den ersteren dagegen Gallionella-Wucherungen vorliegen, und nicht wie Neufeld will, in beiden Fällen Crenothrix. Lichtmangel scheint das Wachstum der Gallionella zu begünstigen. Ich habe sie wenigstens bei der Untersuchung einiger weniger verrosteter Eisenteile aus der offenen Elbe nicht aufgefunden.

Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Vom Assistenten Dr. **Max Düggeli.**

(Fortsetzung.)

Von Interesse schien es uns, auch Untersuchungen darüber anzustellen, ob die auf den gesunden Samen und Früchten vorkommenden Mikroorganismen durch längeres Schütteln mit Wasser von ihrer Unterlage abgeschwemmt werden können. Diese Frage ist einerseits für das Vorhandensein und -bleiben der Bakterien auf dem Saatmaterial von größter Wichtigkeit, andererseits versprechen wir uns, von der Lösung derselben Anhaltspunkte über die Art und Weise des Vorkommens der Mikroben zu erhalten.

Die Untersuchungsmethode war folgende: Je drei Samen resp. Früchte wurden mit 10 ccm sterilem Wasser in einem Reagenzglas 10 Minuten lang tüchtig geschüttelt und sowohl vom Wasser als von dem behandelten Saatgut in geeigneten Verdünnungen Gelatineplatten gegossen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle III (siehe S. 696, 697) zusammengestellt.

Bei den untersuchten 34 Saatproben konnten nur in zwei durch Schütteln mit Wasser keine Bakterien von den Samen resp. Früchten entfernt werden, während es in einem Falle sogar gelang, alle Keime wegzuspülen. Im übrigen konnte ein bedeutender Prozentsatz der Bakterienflora durch das Wasser abgeschwemmt werden, nicht selten mehr als die Hälfte der Gesamtzahl. Die gewonnenen Resultate zeigen, daß die Mikroorganismen recht gut an ihrer Unterlage haften und nicht so leicht abgeschwemmt werden, was für die Erklärung ihres eigentümlichen Vorkommens von größter Bedeutung ist.

---

1) Raumer, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XLII. 1903.

Tabelle
Zahl und Art der durch Schütteln mit Wasser von Samen

Pflanzenspecies	Zahl der entwickelungsfähigen Keime pro Same resp. Frucht[1])	Zahl und Art der pro Same resp. Frucht leicht abspülbaren Keime			
		Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
I. Avena sativa L. S.	1 700	100 000	.	100	.
I. Avena sativa L. S.	23 300	3 100	.	100	.
II. Avena sativa L. S.	23 300	8 000	.	100	.
Dactylis glomerata L. S.	7	33	.	60	40
I. Hordeum vulgare L. S.	80 000	80 000	92	8	.
I. Hordeum vulgare L. S.	3 100	200	.	100	.
I. Secale cereale L. S.	1 600	4 500	.	100	.
I. Secale cereale L. S.	23	60	.	100	.
II. Secale cereale L. S.	3 000	2 000	3	97	.
III. Secale cereale L. S.	430	20	.	100	.
Triticum monococcum L. S.	1 100	2 000	3	97	.
Triticum dicoccum Schrank. S.	5 600	2 000	66	34	.
Triticum durum Desf. S.	3 100	60	.	100	.
Triticum polonicum L. S.	5 000	150	9	91	.
I. Triticum Spelta L. S.	10 000	4 000	33	67	.
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	11 600	.	100	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	20 000	1	99	.
I. Triticum vulgare Vill. S.	8 000	240	.	100	.
II. Triticum vulgare Vill. S.	3 100	1 700	.	100	.
III. Triticum vulgare Vill. S.	83	1 200	.	100	.
IV. Triticum vulgare Vill. S.	4 000	40	10	90	.
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	300 000	30 300	.	100	.
Brassica napus var. rapifera f. napobrassica L. S.	30	—	.	100	.
Medicago lupulina L. S.	20	—	.		.
Trifolium hybridum L. S.	56	50	.	100	.
Anthyllis vulneraria L. S.	steril	40	.	100	.
I. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	130	2 000	.		100
II. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	1 300	300	.	34	66
III. Onobrychis viciaefolia Scop. F.	2 000	1 200	50	50	.
I. Vicia sativa L. S.	70	150	.	25	75
II. Vicia sativa L. S.	17	9	.	63	37
Linum usitatissimum var. vulgare Schüb. et Mart. S.	20	36	.	10	90
Daucus carota L. F.	steril	6 000	77	23	.
Achillea millefolium L. F.	4 000	600	.	45	55

1) Bei einer anderen Probeentnahme bestimmt.

Ueberraschend berührt uns der Befund, daß von den untersuchten 34 Saatmaterialien bei 29 durch das Schütteln mit Wasser zum Teil eine ganz bedeutende Vergrößerung der Keimzahl eintrat. Diese Vermehrung der Keimeinzelindividuen erreichte bei I Secale cereale L. S. das Maximum und beträgt das rund 3175 fache. Es ist richtig, daß die Keimzahl der einzelnen Körner innerhalb einer Saatprobe bedeutend schwankt, wie wir in Tabelle II zahlen-

III.
und Früchten leicht abspülbaren Mikroorganismen.

Zahl und Art der pro Same resp. Frucht nicht abgespülten Keime				Zahl der entwickelungsfähigen Keime pro Same resp. Frucht, erhalten durch Addition der leicht abspülbaren und nicht abgespülten Keime	Zunahme (+) u. Abnahme (—) der in voriger Kolonne erhaltenen Keimzahlen gegenüber denjenigen in der zweiten Kolonne
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime		
167 000	.	100	.	267 000	+ 265 300
310 000	.	97	3	313 100	+ 289 800
313 000	.	100	.	321 000	+ 297 700
1 000	.	100	.	1 033	+ 1 026
233 000	8	92	.	313 000	+ 233 000
73 000	.	100	.	73 200	+ 70 100
16 000	.	100	.	20 500	+ 18 900
73 000	.	100	.	73 060	+ 73 037
20 000	3	97	.	22 000	+ 19 000
8 000	25	75	.	8 020	+ 7 590
1 400	.	100	.	3 400	+ 2 300
4 000	50	50	.	6 000	+ 400
70	10	90	.	130	— 2 970
920	.	100	.	1 070	— 3 930
11 000	.	100	.	15 000	+ 5 000
100 000	.	100	.	111 600	+ 103 270
3 600	9	91	.	23 600	— 19 700
23 000	.	100	.	23 240	+ 15 240
40 000	.	100	.	41 700	+ 38 600
2 800	.	100	.	4 000	+ 3 917
130	3	97	.	170	— 3 830
53 700	.	100	.	84 000	— 216 000
50	.	100	.	50	+ 20
700	.	100	.	700	+ 680
270	.	100	.	320	+ 264
7	.	100	.	47	+ 47
1 000	5	90	5	3 000	+ 2 870
1 100	.		100	1 400	+ 100
1 200	16	76	8	2 400	+ 400
3 400	.		100	3 550	+ 3 480
50	.	78	22	59	+ 42
23	.	45	55	59	+ 39
—	.		.	6 000	+ 6 000
3 500	.	90	10	4 100	+ 100

mäßig feststellen konnten und diesen Faktor müssen wir bei der Diskussion des angeführten Befundes berücksichtigen, denn zur Keimzahlbestimmung vor und nach dem Schütteln mußten je drei verschiedene Samen der gleichen Probe entnommen werden. Auch bei gebührender Berücksichtigung dieses Umstandes kommen wir doch zu dem Schlusse, daß die Ursache dieser Keimzahlvergrößerung durch Schütteln mit Wasser in einer typischen Eigenschaft der auf

Pflanzen und Saatmaterialien dominierend vorkommenden Bakterienarten zu suchen ist.

Bei genauerer Untersuchung der ab pflanzlichem Material gewonnenen Reinkulturen von Bacterium herbicola aureum und Bact. fluorescens, als den beiden am häufigsten vorkommenden Species, fällt die starke Schleimbildung auf, die oft an eigentliches Fadenziehen grenzt. Es kostete oft etwelche Mühe, wenn von Reinkulturen genannter Mikrobenarten, die frisch ab Pflanzen oder Samen isoliert worden waren, in kurzer Zeit wässerige Aufschwemmungen bereitet werden sollten; es verstrich immer eine bedeutende Frist, bis der gebildete Bakterienschleim sich ganz gelöst hatte. Nach mehrmaligem Ueberimpfen auf künstliche Nährböden wurde aber diese Eigenschaft bei der einen Art rasch rückgebildet und nach 5—6 Generationen war Bact. fluorescens, ab pflanzlichem Material gewonnen, in allen seinen Eigenschaften von einem aus Gartenerde isolierten Stamm nicht mehr zu unterscheiden. Die Kolonieen von Bact. herbicola aureum zeichnen sich zudem durch die Bildung von typischen, ebenfalls auf einen Verschleimungsprozeß zurückzuführende Zooglöen aus, die sich als meist wurstförmige Bakterienkonglomerate erweisen. Am Präparat im hängenden Tropfen konnten wir unzählige Male konstatieren, wie diese Zooglöen nach kürzerem oder längerem Verbleiben in der Flüssigkeit deutlich „abschmolzen“, indem es durch die vom Wasser bewirkte Auflösung der Schleimsubstanz, welche die Bakterien zusammenhielt, den beweglichen Stäbchen gelang, frei zu werden. Diese Zooglöen, welche im Wasser wie Butter in der Wärme zerfließen, erwiesen sich aber als konstantes, erbliches Merkmal von Bact. herbicola aureum und waren trotz mehrfachen Ueberimpfens auf künstliche Nährböden stets wieder zu konstatieren.

Diese Anpassung der auf pflanzlichem Material lebenden Bakterienarten an ihre Unterlage durch Schleimbildung ist für die Mikroorganismen von weittragendster Bedeutung. Nicht nur daß durch sie das Leichtabgeschwemmtwerden verhindert wird, sondern durch diese Bildung von Bakterienschleim wird das Vorkommen von nicht sporenbildenden Bakterien auf den verschiedenen Pflanzenteilen erst ermöglicht. Wie sollten nicht sporogene Mikroben auf recht trockener Unterlage bei Nahrungs-, besonders auch Wassermangel den Unbilden extremster Witterungseinflüsse zu trotzen vermögen, wenn nicht eine schützende Schleimschicht den vegetativen Körper umgibt? Dieser Bakterienschleim dient gleichzeitig als Wasserreservoir, das in Zeiten der Dürre noch lange Wasser abzugeben vermag, während diese schützende Hülle bei günstigen Ausbreitungsbedingungen (feuchte Witterungsperioden) der Weiterverbreitung kein Hindernis entgegensetzt, da sie durch Wasser gelöst wird.

Eine schwierig zu beantwortende und bei den vorliegenden Versuchen nicht näher geprüfte Frage ist die nach den Nährstoffquellen der auf Samen und Früchten, auf pflanzlichem Material überhaupt sich findenden Mikroorganismen. Atmosphärische Niederschläge und Transpirationswasser der Pflanze können unter günstigen

Umständen genügend Feuchtigkeit liefern, welche durch den gebildeten Bakterienschleim in größerer Quantität festgehalten, auch in trockenen Witterungsperioden zu genügen vermag. Woher erhalten aber die auf Pflanzen sitzenden Keime die zum Gedeihen nötigen Mengen von Kohlehydraten und Proteïnstoffen? Wir stellten bei mehreren ab Samen, Früchten und Keimpflanzen isolierten Stämmen von Bact. herbicola aureum, Bact. herbicola rubrum, Bact. fluorescens und Bact. putidum Erhebungen an bezüglich des Verhaltens dieser Bakterienspecies gegenüber verschiedenen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen. Den Versuchen wurde eine mineralische Nährsalzlösung mit 0,1 Proz. Dikaliumphosphat (K_2HPO_4), 0,02 Proz. Magnesiumsulfat ($MgSO_4$) und 0,01 Proz. Chlorcalcium ($CaCl_2$) zu Grunde gelegt und je 50 ccm dieser Lösung abwechselnd zugesetzt:

I. 0,5 g Pepton + 0,5 g Rohrzucker,
II. 0,5 g Pepton,
III. 0,5 g Kalisalpeter + 0,5 g Rohrzucker,
IV. 0,5 g Asparagin + 0,5 g Rohrzucker,
V. 0,5 g Asparagin,
VI. 0,5 g weinsaures Ammon + 0,5 g Glycerin,
VII. 0,5 g weinsaures Ammon,
VIII. 0,5 g Kalisalpeter + 0,5 g Glycerin.

Nach einer Beobachtungszeit von 10 Tagen bei 30°, während welcher die nicht geimpften Kontrollgläschen kein Wachstum zeigten, wurden die geimpften Lösungen endgültig geprüft und hierbei konstatiert, daß Bact. herbicola aureum und Bact. herbicola rubrum überall eine stärkere oder schwächere Trübung mit oder ohne Bodensatz hervorriefen, daß also die beiden Bakterienarten in den dargebotenen Stickstoff- und Kohlenstoffquellen gar nicht wählerisch sind. Das stärkste Wachstum wurde erzielt bei Anwesenheit von Pepton und Rohrzucker (I), Asparagin und Rohrzucker (IV), sowie von weinsaurem Ammon und Glycerin (VI) in der Nährlösung. Wesentlich anders verhielten sich Bact. fluorescens und Bact. putidum, die nur in den Lösungen I bis V eine nennenswerte Trübung hervorriefen, die bei Anwesenheit von Pepton und Rohrzucker (I) sowie bei Asparagin und Rohrzucker (IV) am stärksten war, während die mineralische Nährlösung mit Zusatz von weinsaurem Ammon und Glycerin (VI), weinsaurem Ammon allein (VII), sowie Kalisalpeter und Glycerin (VIII) keine Vermehrung der eingeimpften Stäbchen ermöglichte.

Wenn wir die auf das Quadratmillimeter Samen- resp. Fruchtoberfläche reduzierten Keimzahlen vor und nach dem Schütteln mit Wasser kurz miteinander vergleichen, so kann konstatiert werden, daß pro Quadratmillimeter Oberfläche 0 bis 15000 Keime abgeschwemmt wurden, während nach den früheren Ausführungen 0 bis 10000 Keime pro Flächeneinheit bei direktem Zerreiben in Wasser und sofortiger Herstellung der Plattenkulturen gefunden worden sind. Ob die beiden auf den Samen so häufig vorkommenden Species Bact. herbicola aureum und Bact. fluorescens verschieden widerstandsfähig gegen das Abspülen sind, ist aus den vorstehenden

Untersuchungen nicht ersichtlich; dagegen zeigen dieselben, daß das richtigste Verfahren zum Bestimmen der Keimzahl von Sämereien, von pflanzlichem Material überhaupt, in sorgfältigem Zerreiben desselben mit genügend sterilem Wasser und nachfolgendem tüchtigen Schütteln bestehen würde.

B. Keimpflanzen.

Das Hauptaugenmerk bei unserer Arbeit richteten wir auf qualitative und quantitative Untersuchungen über die Entwickelung von Bakterien auf gesunden Keimpflanzen, bei denen eine Besiedelung mit Keimen durch mikrobenführende Luftströme und ähnlich wirkende äußere Verhältnisse nach Belieben ausgeschlossen und so eine Bakterienvermehrung auf den Keimlingen festgestellt werden kann.

Die Versuchsanordnung zur Erreichung dieses Zieles war folgende: Um den Vorgang der Bakterienentwickelung auf den Keimlingen in ungetrübter Reinheit verfolgen zu können, wurden Gläser von 0,4 l Inhalt mit 200 g geschlemmten Seesand beschickt, mit Glasschalen bedeckt und im Autoklaven sterilisiert. Nach erfolgter Abkühlung verbrachten wir in die so vorbereiteten Kulturgefäße 8—10 Samen resp. Früchte einer Saatprobe, deren Keimgehalt vorher bestimmt worden war, stießen dieselben mittels sterilisierter Pinzette in gemessenen Abständen voneinander ca. $^1/_2$ cm tief in das Keimbeet und feuchteten mit sterilisiertem Wasser reichlich an. Das Gleiche wurde auch ausgeführt, indem Gartenerde mit bekanntem Bakteriengehalt als Keimboden zur Verwendung kam, ohne sterilisiert zu werden. Diese mit Samen bestellten Kulturgefäße wurden unter verschiedenen äußeren Bedingungen so lange aufbewahrt, bis die sich entwickelnden Keimlinge eine Länge von ca. 5 cm erreicht hatten. Die gesunden lebenskräftigen Keimpflanzen, die auf Sand gewachsen waren, gelangten in Blatt, Stengel und Wurzel des nämlichen Individuums zur quantitativen Verarbeitung, indem mittels geeigneter Verdünnungen Plattenkulturen mit gewöhnlicher, schwach alkalischer Gelatine (auf Curcuma eingestellt) gegossen wurden, während wir von den auf Erde sprießenden Keimpflänzchen nur Blatt und Stengel auf den Bakteriengehalt prüften. Die beiden Keimböden (Sand und Erde) sowie die verschiedenen äußeren Bedingungen sollten den Einfluß von Sand resp. Erde, Licht, Feuchtigkeit und Temperatur auf die Entwickelung von Mikroorganismen auf den Keimlingen dartun. Die verschiedenen äußeren Bedingungen, welche sowohl bei den auf Sand als auf Erde gezogenen Keimpflänzchen zur Anwendung gelangten, sind folgende:

a) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter Lichtzutritt, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°);

b) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, ungehinderter Lichtzutritt, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°);

c) Kulturgefäß nicht bedeckt, Lichtzutritt ausgeschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°);

d) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, Lichtzutritt ausgeschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°);

e) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter Lichtzutritt, Temperatur 1—12° C (Mittel ca. 5°). Im Freien.

Durch Vergleichung der bei den Bedingungen b und d gewonnenen Resultate mit den übrigen Keimzahlen kann einerseits festgestellt werden, ob keimführende Luftströme für den Bakteriengehalt der Pflänzchen von Bedeutung sind und welchen Einfluß eine wasserdampfreiche Atmosphäre auf die Mikroorganismen auszuüben vermag. Inwiefern Licht und Dunkelheit den Keimgehalt der Pflanzen beeinflussen, ist aus dem Vergleich der bei c und d einerseits, a, b und e andererseits konstatierten Bakterienzahlen zu entnehmen. Die Wirkung der Temperatur ist aus einer Gegenüberstellung der bei a, b, c und d festgestellten Keimzahlen gegenüber den bei e gewonnenen ersichtlich.

Die Untersuchungen, über welche hier kurz berichtet werden soll, wurden im Winter im Laboratorium ausgeführt und erst im Frühling konnten einige Versuche (e) im Freien durchgeführt werden; die hierbei erhaltenen Resultate decken sich aber mit denen im geheizten Raum unter ähnlichen Bedingungen erhaltenen so gut, daß nicht tiefergreifende Unterschiede festgestellt werden konnten. Die Bedingungen, die bei unserer Versuchsanordnung am ehesten denen im Freien in vorgerückter Frühlingszeit entsprechen, sind diejenigen von b, wo das Kulturgefäß, mit einer Glasschale bedeckt, bei ungehindertem Lichtzutritt einer Temperatur von 15—18° C (Mittel 17°) ausgesetzt war. Die Temperatur von 15—18° ist zwar etwas hoch bemessen, könnte aber füglich bedeutend niedriger angesetzt werden, denn wie die Untersuchungen zeigten, beeinflußt die zur Verfügung stehende Wärmemenge, sofern sie nicht extreme Verhältnisse berührt, die Bakterienentwickelung nur wenig oder gar nicht. Ebenso beeinflußt, wie die einschlägigen Versuche zeigen, das Licht resp. die Dunkelheit die Vermehrung der Bakterien auf den Pflanzen kaum. Wir können deshalb die unter Rubrik d zahlreich ausgeführten Keimzahlbestimmungen mit denjenigen der im Freien gewachsenen Pflänzchen recht gut vergleichen.

(Siehe Tabelle IV, IV A S. 702—705.)

Ziehen wir zunächst den Vergleich zwischen den Keimzahlen der Samen und Früchte und der Zahl der entwickelungsfähigen Mikroorganismen auf den aus ihnen hervorgegangenen Keimpflanzen, unbekümmert um die verschiedenen äußeren Bedingungen.

Auf den ersten Blick fällt es uns auf, welch gewaltige Vermehrung die auf den Samen resp. Früchten sitzenden Bakterien während des Keimungsvorganges erfuhren und wie sie sich auf den Keimpflanzen auszubreiten vermochten. Von den 54 untersuchten Fällen war die Zahl der Mikroorganismen auf den Keimpflanzen meistens ein Vielfaches, mindestens das sechsfache derjenigen auf dem entsprechenden Saatmaterial. Der Einwand, daß die zur Keimung gelangenden Körner viel bakterienreicher gewesen seien

Tabelle

Vergleichende Zusammenstellung von Zahl und Art der auf erhaltenen Keimlingen vor

A. Die Samen und Früchte gelangten

Pflanzenspecies	Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime pro Same oder Frucht				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem ganzen Keimling [1])			
	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
a) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter								
II. Triticum Spelta L. F.	8 300	2	98	.	420 000	16	84	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	330 700	82	18	.
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	5 250 000	.	100	.
b) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, ungehin								
II. Triticum Spelta L. F.	8 300	2	98	.	721 500	.	100	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	816 000	86	14	.
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	31 180 000	.	100	.
c) Kulturgefäß nicht bedeckt, Lichtzutritt aus								
II. Triticum Spelta L. F.	8 300	2	98	.	2 710 900	94	6	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	3 058 000	40	60	.
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	550 500	34	66	.
d) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, Lichtzutritt								
Avena sativa L. S.	23 000	.	100	.	4 190 000	31	69	.
Arrhenatherum elatius M. et K. F.	steril	.	.	.	1 640 000	12	88	.
Dactylis glomerata L. S.	7	.	100	.	13 540	.	89	11
Poa compressa L. F.	steril	.	.	.	1 000 260	.	100	.
Poa trivialis L. S.	110	3	.	97	3 500	13	57	30
Lolium italicum A. Br. F.	80	12	.	88	1 214 800	49	51	.
I. Hordeum vulgare L. S.	80 000	8	92	.	19 726 500	.	100	.
I. Secale cereale L. S.	1 600	.	100	.	3 000 000	1	99	.
II. Secale cereale L. S.	3 000	.	100	.	1 833 700	33	67	.
III. Secale cereale L. S.	430	11	89	.	13 100 000	66	34	.
Triticum monococcum L. S.	1 100	.	100	.	2 450 000	44	56	.
Triticum dicoccum Schrank. S.	5 600	1	99	.	4 007 900	66	34	.
Triticum durum Desf. S.	3 100	3	97	.	640 000	79	21	.
Triticum polonicum L. S.	5 000	.	100	.	6 550 000	66	34	.
I. Triticum Spelta L. S.	10 000	.	100	.	4 020 300	66	34	.
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.	7 971 000	7	93	.
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	6 421 400	5	95	.
I. Triticum vulgare Vill. S.	8 000	.	100	.	15 370 000	.	100	.
II. Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	1 701 000	29	71	.
III. Tritium vulgare Vill. S.	83	.	100	.	3 501 300	66	34	.
IV. Triticum vulgare Vill. S.	4 000	1	99	.	4 067 700	65	35	.
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	800 000	33	34	33	3 780 000	33	50	17
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	300 000	60	40	.	4 320 000	27	73	.
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba S.	53	.	60	40	4 020 000	.	100	.
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. altissima F.	23 000	.	.	100	22 640 000	.	1	99
I. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.	steril	.	.	.

1) Erhalten durch Addition der in den drei folgenden Kolonnen enthaltenen Zahlen.

IV.
Saatmaterial und daraus unter verschiedenen äußeren Bedingungen
kommenden Mikroorganismen.

auf sterilem Sand zum Keimen.

Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Wurzeln des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem Stengel des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Blättchen des Keimlings			
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
Lichtzutritt, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
360 000	16	84	.	60 000	16	84	.	steril	.	.	.
300 000	80	20	.	30 000	100	.	.	700	100	.	.
5 250 000	.	100	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
derter Lichtzutritt, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
600 000		100	.	120 000	.	100	.	1 500	7	93	.
540 000	80	20	.	150 000	96	4	.	126 000	100	.	.
30 700 000	.	100	.	360 000	25	75	.	120 000	2	98	.
geschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
2 700 000	94	6	.	4 500	88	12	.	6 400	.	100	.
3 000 000	40	60	.	36 000	97	3	.	22 000	.	100	.
540 000	33	67	.	2 500	.	96	4	8 000	94	6	.
ausgeschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
4 000 000	30	70	.	120 000	33	67	.	70 000	57	43	.
1 400 000	14	86	.	240 000	.	100	.	steril	.	.	.
12 000	.	100	.	40	.	50	50	1 500	.	.	100
1 000 000	.	100	.	140	.	57	43	120	100	.	.
3 500	13	57	30	steril	.		.	steril	.	.	.
1 200 000	50	50	.	4 800	.	100	.	10 000	.	100	.
19 700 000	.	100	.	18 000	97	3	.	8 500	94	6	.
2 700 000	1	99	.	180 000	.	100	.	120 000	.	100	.
1 800 000	33	67	.	3 700	.	100	.	30 000	.	99	1
10 800 000	66	34	.	1 800 000	66	34	.	500 000	66	34	.
1 800 000	33	67	.	600 000	75	25	.	50 000	66	34	.
4 000 000	66	34	.	900	77	23	.	7 000	86	14	.
540 000	75	25	.	50 000	98	2	.	50 000	98	2	.
4 000 000	66	34	.	150 000	66	34	.	2 400 000	66	34	.
4 000 000	66	34	.	5 500	18	82	.	14 800	7	93	.
7 500 000	6	94	.	216 000	17	83	.	255 000	22	78	.
6 000 000	5	95	.	420 000	5	95	.	1 400	36	64	.
15 200 000	.	100	.	50 000	10	90	.	120 000	4	96	.
1 365 000	33	67	.	300 000	2	98	.	36 000	100	.	.
3 500 000	66	34	.	1 300	70	30	.	steril	.	.	.
4 000 000	66	34	.	63 000	5	95	.	4 700	36	64	.
2 400 000	25	50	25	1 200 000	50	50	.	180 000	25	50	25
4 000 000	25	75	.	160 000	20	80	.	160 000	75	25	.
3 600 000	.	100	.	240 000	.	100	.	180 000	.	100	.
20 000 000	.	1	99	2 400 000	.	.	100	240 000	.	.	100
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.

Fortsetzung von

Pflanzenspecies	Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime pro Same oder Frucht				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem ganzen Keimling [1])			
	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
II. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.	2 010 000	25	.	75
I. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
II. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
II. Trifolium pratense L. S.	10 000	.	93	7	790 000	.	100	.
Trifolium repens L. S.	570	47	.	53	3 400	.	97	3
Trifolium hybridum L. S.	56	.	100	.	12 700 540	17	83	.
I. Onobrychis viciaefolia Scop. F.	100	.	67	33	2 817 000	66	34	.
II. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	1 300	.	.	100	40 200	50	50	.
III. Onobrych. viciaefolia Scop. F.	2 000	.	100	.	498 600	72	28	.
Vicia sativa L. S.	70	.	20	80	35 500	.	100	.
Linum usitatissimum var. vulgare Schüb. et Mart. S.	20	.	15	85	194 100	98	2	.
I. Daucus carota L. F.	130	26	.	74	270 000	.	100	.
II. Daucus carota L. F.	steril	.	.	.	57 250	14	31	55
Achillea millefolium L. F.	4 000	.	100	.	120 200	.	100	.
e) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter Licht								
III. Avena sativa L. S.	30 000	.	100	.	650 500	77	23	.
III. Avena sativa L. S.	35 000	.	100	.	2 528 000	15	84	1
Hordeum vulgare L. S.	30 000	11	89	.	245 800	27	73	.
Triticum vulgare Vill. S.	20 000	.	100	.	1 081 000	75	25	.
Medicago sativa L. S.	8 300	8	92	.	960 000	58	42	.

1) Erhalten durch Addition der in den drei folgenden Kolonnen enthaltenen Zahlen.

als diejenigen, welche aus der gleichen Probe zur direkten Bestimmung der Keimzahl Verwendung fanden, wird wohl kaum Stand halten gegenüber der Tatsache, daß das Keimpflänzchen von Trifolium hybridum L. 12 700 540 Keime beherbergte, während auf den entsprechenden Samen der gleichen Probe nur 56 entwickelungsfähige Mikroorganismen entfallen. Das Keimpflänzchen besaß also die 226 795 fache Keimzahl des Samens. Ohne auf solche Zahlen ein allzu großes Gewicht legen zu wollen, was umsomehr berechtigt erscheint, als 4 Fruchtproben, die sich bei der ersten Prüfung steril erwiesen, auf den Keimlingen doch große Keimzahlen ergaben, so zeigen die ausgeführten Versuche doch deutlich, daß auf den Keimlingen sich ausnahmslos viel mehr Bakterien befanden als auf dem zugehörigen Saatmaterial.

Auch die Art der auf den Keimlingen herrschenden Bakterienspecies ist mit den auf den Samen und Früchten dominierenden vollkommen identisch, beiderorts nehmen Bact. herbicola aureum und Bact. fluorescens eine hervorragende Stellung ein. Da nun als Keimbeet sterilisierter Sand und als Anfeuchtungs-

Tabelle IV A.

Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Wurzeln des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem Stengel des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Blättchen des Keimlings			
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
720 000	24	.	76	90 000	25	.	75	1 200 000	25	.	75
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
720 000	.	100	.	20 000	.	100	.	50 000	.	100	.
steril	.	.	.	2 200	.	95	5	1 200	.	100	.
11 000 000	20	80	.	540	4	92	4	1 700 000	.	100	.
2 800 000	66	34	.	9 000	6	94	.	8 000	6	94	.
24 000	83	17	.	12 000	.	100	.	4 200	.	100	.
480 000	75	25	.	6 600	7	93	.	12 000	6	94	.
30 000	.	100	.	3 500	.	100	.	2 000	.	100	.
180 000	100	.	.	4 100	2	98	.	10 000	100	.	.
30 000	.	100	.	steril	.	.	.	240 000	.	100	.
56 000	14	30	56	820	5	75	20	430	8	70	22
108 000	.	100	.	200	10	90	.	12 000	2	98	.
zutritt, Temperatur 1—12° C (Mittel 5°). Im Freien											
600 000	75	25	.	50 000	98	2	.	500	.	100	.
108 000	35	48	17	2 400 000	14	86	.	20 000	66	34	.
240 000	25	75	.	5 800	90	10	.	steril	.	.	.
1 080 000	75	25	.	800	75	25	.	200	.	100	.
540 000	97	3	.	360 000	4	96	.	60 000	35	65	.

mittel sterilisiertes Wasser dienten, welch beide Medien sich durch mehrere blinde Versuche als vollkommen keimfrei erwiesen, so ist der zwingende Beweis erbracht, daß die auf den Keimpflanzen sich findende Bakterienflora, wie sie sich nach Zahl und Art mittels Gelatineplatten feststellen läßt, der Hauptsache nach das Ergebnis einer während des Wachstums der Pflanze auf derselben stattgefundenen Bakterienentwickelung ist[1]).

Es ist auffallend, daß auf den grünen, oft mit Tau beschlagenen Pflanzenteilen sich die gleichen Bakterienarten finden, wie auf trockenen, ganz andere Bedingungen bietenden Samen und Früchten. Diese Erscheinung kann mit ziemlicher Sicherheit durch den Umstand erklärt werden, daß die Mikroorganismen größtenteils von den grünen Pflanzenteilen auf die sich entwickelnden Samen und Früchte übergehen, dort nach eingetretener Vermehrung, die noch unter

1) Das Verbleiben und sich weiter Vermehren der auf den Keimpflanzen sitzenden Mikroorganismen während der ganzen Vegetationszeit der betreffenden Pflanzenspecies läßt sich jetzt zwanglos erklären.

günstigen äußeren Einflüssen stattfinden kann, beim Eintreten ungünstiger Verhältnisse ein vorwiegend passives Dasein fristen.

Wie die auf den Samen und Früchten hauptsächlich vorkommenden Bakterienspecies zeichnen auch die auf den Keimpflanzen vorherrschenden sich durch oft bedeutende Schleimbildung aus, weshalb hier auf das bei der Besprechung der Tabelle III Gesagte hingewiesen sei. Die Ausbreitung der Bakterien auf den Keimpflanzen ist, da es sich weit vorwiegend um bewegliche Mikroorganismen handelt, teils passiv, teils aktiv. Passiv werden die Mikroben beim Strecken des pflanzlichen Zellkörpers mit in die Höhe gehoben, aktiv vermögen sie dann Dislokationen vorzunehmen, wenn durch reichliche Feuchtigkeit, besonders bei starker Taubildung, die schützende Schleimhülle gelöst wird und die Stäbchen ausschwärmen können.

Von Interesse ist es, die Zahl der Bakterien auf den einzelnen Teilen des Keimlings, Wurzel, Stengel und Blättchen miteinander zu vergleichen. Von vornherein ist zu erwarten, daß von der Wurzel ausgehend, wo die Bedingungen zu einer regen Vermehrung der Mikroben zufolge reichlicher Feuchtigkeit wohl die günstigsten sind, auf den oberirdischen Pflanzenteilen die Keimzahl kleiner wird. Von den 54 untersuchten Keimpflanzen erwies sich nur in 2 Fällen einer der oberirdischen Pflanzenteile reicher an Bakterien als die Wurzel, nämlich bei I. Daucus carota L. F. betrug die Gesamtkeimzahl per Pflänzchen 270000, wovon nur 30000 Keime auf die Wurzel entfielen, dagegen 240000 auf die Blättchen, während das Stengelchen frei von Mikroorganismen war. Ebenso betrug der Gesamtbakteriengehalt des Keimlings von III. Avena sativa L. S. 2528000 Mikroben, wovon nur 108000 auf die Wurzel entfielen, dagegen auf den Stengel 2400000 und auf das Blatt 20000 Keime. Diese Ausnahmen mögen durch Umstände, die sich unserer Beobachtung entziehen, hervorgerufen worden sein. Meist ist die Summe der Keimzahlen von Blättchen und Stengel kleiner als die Zahl der auf der Wurzel vorkommenden Bakterien. Es muß hier allerdings bemerkt werden, daß beim Verarbeiten der Wurzeln fest anhaftende Sandkörner nicht entfernt werden konnten und bei der Bestimmung der Keimzahl mit berücksichtigt wurden. Vorwiegend ist die Zahl der auf den Blättchen sich findenden Mikroben kleiner als die auf dem Stengel zu konstatierenden, sodaß bei 4 Versuchen die Blättchen als steril zu bezeichnen waren, während die Stengelchen bedeutende Bakterienzahlen aufwiesen.

Recht instruktiv ist es auch, die Zahl der entwickelungsfähigen Keime per Quadratmillimeter Oberfläche bei den verschiedenen Arten von Keimpflanzen vergleichend zusammenzustellen. Alle Zahlen können wir hierbei konstatieren von 1 bis hinauf zu 120000 bei den Blättchen von Medicago sativa L. F., ja bis zu 170000 Keime auf 1 qmm Oberfläche bei den Blättchen von Trifolium hybridum L. S. Wir müssen hier aber Raummangels halber darauf verzichten, dieser Reduktion der Keimzahlen auf die Oberflächeneinheit weitere Aufmerksamkeit zu schenken.

Es erübrigt uns noch, den Einfluß verschiedener äußerer Be-

dingungen (Licht, Temperatur und Feuchtigkeit) auf die Entwickelung der Bakterienflora von Keimpflanzen kurz zu berücksichtigen, sofern die angestellten Versuche gültige Schlüsse ergeben haben. Licht und Dunkelheit sowie eine nicht allzusehr schwankende Temperatur vermochten den Bakteriengehalt der Keimpflanzen nicht wesentlich zu beeinflussen; doch müssen wir hier darauf aufmerksam machen, daß die geringe Zahl der ausgeführten diesbezüglichen Versuche eine Verallgemeinerung der konstatierten Resultate nicht zulassen. In den 43 Fällen, wo das Keimbeet, von einer Glasschale bedeckt, nur einen beschränkten Gasaustausch mit der Außenwelt gestattete, demzufolge der Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Kulturgefäß ein relativ hoher war und öfter Betauung der Keimpflanzen eintrat, wiesen die Keimpflanzen im Durchschnitt rund die $3^1/_2$fache Zahl von entwickelungsfähigen Mikroorganismen auf gegenüber den im nicht bedeckt gehaltenen Keimbeet gewachsenen Pflänzchen. Diese beachtenswerte Abhängigkeit der Keimzahl der jungen Pflanzen vom Feuchtigkeitsgehalt der Luft resp. der öfteren Betauung und häufigen Niederschlägen weist darauf hin, daß die aktive Ausbreitung der Bakterien auf pflanzlichem Material durch Ortsveränderung infolge Eigenbewegung eine nicht unwichtige Rolle spielt, obwohl zu bemerken ist, daß genügende Feuchtigkeitsmengen die Vermehrung der Mikroorganismen überhaupt begünstigen. Daß die Luftströmungen bei der Besiedelung der Keimpflanzen mit Mikroben sicher keine Rolle spielen, geht aus diesen bedeckt gehaltenen Kulturen, wo der Zutritt keimführender Medien von außen ausgeschlossen ist, zur Evidenz hervor.

Entsprechende Versuche über den Keimgehalt der jungen Pflanzen unter verschiedenen äußeren Bedingungen wurden gleichzeitig ausgeführt, wobei Gartenerde statt steriler Sand als Keimbeet diente. Die hierbei erhaltenen Resultate sind den eben angeführten so überraschend ähnlich, daß die dort gezogenen Schlüsse eine wünschenswerte Bestätigung erfahren, wir aber füglich darauf verzichten können, nach Anführung des Beweismateriales in Tabelle IV B eine eingehende Besprechung derselben vorzunehmen, da dieselbe mit geringen Abänderungen beinahe gleichlautend wie bei IV A ausfallen würde.

(Siehe Tabelle IV, IV B S. 708—711.)

Die zu vorstehenden Versuchsreihen benutzte Gartenerde war in jedem einzelnen Falle einer bakteriologischen Untersuchung mittels des Plattenverfahrens unterworfen worden. In diesen Bodenproben spielten eine wichtige Rolle: Bacterium fluorescens (Flügge) L. et N., Bact. putidum (Flügge) L. et N., Bacillus Megatherium (De Bary), Bac. mycoides Flügge, Bac. vulgatus (Flügge) Migula, Bacterium Coli (Escherich) L. et N. und einige nicht näher verfolgte Kurz- und Langstäbchen sowie Schimmel- und Streptothrix-Arten. Man sollte glauben, daß bei Verwendung von Gartenerde als Keimbeet eine Reihe der im Boden enthaltenen Bakterienarten auf die Keimpflanzen übergehen vermögen und sich dort stark vermehren würden. Dies ist aber nicht so. Wie bei den auf sterilem Sande gezogenen

Tabelle

Vergleichende Zusammenstellung von Zahl und Art der auf dingungen erhaltenen Keimlingen

B. Die Samen und Früchte ge

Pflanzenspecies	Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime pro Same resp. Frucht				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime im Gramm verwendeter Keimerde			
	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species
	a) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter							
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	1 800 000	26	.	74
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	1 800 000	26	.	74
	b) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, unge							
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	1 800 000	26	.	74
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	1 800 000	26	.	74
	c) Kulturgefäß nicht bedeckt, Lichtzutritt aus							
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	1 800 000	26	.	74
Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	1 800 000	26	.	74
	d) Kulturgefäß mit Glasschale bedeckt, Lichtzutritt							
Avena sativa L. S.	23 300	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Arrhenatherum elatius M.et K. F.	steril	.	.	.	1 800 000	6	.	94
Dactylis glomerata L. S.	7	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Poa compressa L. F.	steril	.	.	.	720 000	.	.	100
Poa trivialis L. S.	110	3	.	97	1 800 000	6	.	94
Lolium italicum A. Br. F.	80	12	.	88	720 000	.	.	100
I. Hordeum vulgare L. S.	80 000	8	92	.	1 800 000	26	.	74
I. Secale cereale L. S.	1 600	.	100	.	1 800 000	26	.	74
III. Secale cereale L. S.	430	11	89	.	1 800 000	26	.	74
II. Secale cereale L. S.	3 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Triticum monococcum L. S.	1 100	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Triticum dicoccum Schrank. S.	5 600	1	99	.	1 800 000	26	.	74
Triticum durum Desf. S.	3 100	3	97	.	1 800 000	26	.	74
Triticum polonicum L. S.	5 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
I. Triticum Spelta L. S.	10 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum Spelta L. F.	8 330	2	98	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum Spelta L. S.	43 300	14	86	.	1 800 000	26	.	74
I. Triticum vulgare Vill. S.	8 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
II. Triticum vulgare Vill. S.	3 100	.	100	.	1 800 000	26	.	74
III. Triticum vulgare Vill. S.	83	.	100	.	1 800 000	26	.	74
IV. Triticum vulgare Vill. S.	4 000	1	99	.	1 800 000	26	.	74
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	800 000	33	34	33	3 000 000	5	.	95
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba F.	300 000	60	40	.	1 800 000	26	.	74
II. Beta vulgaris var. rapa Dumort f. alba S.	53	.	60	40	1 800 000	26	.	74
Beta vulgaris var. rapa Dumort f. altissima F.	23 000	.	.	100	3 000 000	5	.	95
I. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.	3 000 000	5	.	95

1) Erhalten durch Addition der in den beiden folgenden Kolonnen enthaltenen Zahlen.

IV.

Saatmaterial und daraus unter verschiedenen äußeren Be-
vorkommenden Mikroorganismen.

langten auf Gartenerde zum Keimen.

Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den oberirdischen Teilen eines Keimlings [1]				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem Stengel des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Blättchen des Keimlings			
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species
Lichtzutritt, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
25 300	91	9	.	25 000	92	8	.	300	.	100	.
14 900	60	40	.	1 500	100	.	.	13 400	55	45	.
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
hinderter Lichtzutritt. Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
116 000	17	76	7	36 000	16	67	17	80 000	18	80	2
78 100	81	19	.	75 000	80	20	.	3 100	100	.	.
380 000	6	94	.	200 000	10	90	.	180 000	1	99	.
geschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
175 000	.	99	1	100 000	.	98	2	75 000	.	100	.
600	50	50	.	600	50	50	.	steril	.	.	.
5 500	.	.	100	5 500	.	.	100	steril	.	.	.
ausgeschlossen, Temperatur 15—18° C (Mittel 17°)											
60 000	30	70	.	36 000	30	70	.	24 000	30	70	.
60 000	100	.	.	60 000	100	.	.	steril	.	.	.
150	50	37	13	150	50	37	13	steril	.	.	.
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
steril	.	.	.	steril	.	.	.	steril	.	.	.
6 830	29	42	29	830	.	100	.	6 000	33	34	33
12 400	.	100	.	12 000	.	100	.	400	.	100	100
64 400	16	.	84	60 000	17	.	83	4 400	.	.	.
2 600	30	70	.	2 600	30	70	.	steril	.	.	.
100 000	63	37	.	50 000	75	25	.	50 000	50	50	.
121 300	.	100	.	90 000	.	100	.	31 300	.	100	.
150 300	34	66	.	150 000	34	66	.	300	.	100	.
4 600	65	35	.	3 000	67	33	.	1 600	62	38	.
800	12	88	.	800	12	88	.	steril	.	.	.
1 600	25	75	.	700	14	86	.	900	33	67	.
1 080 000	33	67	.	900 000	33	67	.	180 000	33	67	.
475 000	23	77	.	450 000	20	80	.	25 000	80	20	.
183 000	59	41	.	120 000	90	10	.	63 000	.	100	.
1 200	.	83	17	600	.	83	17	600	.	83	17
64 100	27	38	35	60 000	25	38	37	4 100	50	50	.
9 000	17	83	.	3 800	.	100	.	5 200	30	70	.
264 000	30	47	23	24 000	4	92	4	240 000	33	42	25
14 600	.	7	93	600	.	20	80	14 000	.	6	94
78 000	38	31	31	60 000	40	30	30	18 000	33	34	33
487 000	100	.	.	7 000	70	20	10	480 000	100	.	.
348 000	99	.	1	18 000	97	.	3	330 000	99	.	1

Fortsetzung von

Pflanzenspecies	Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime pro Same resp. Frucht				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime im Gramm verwendeter Keimerde [1])			
	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species
II. Medicago sativa L. F.	steril	.	.	.	3 000 000	5	.	95
I. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.	3 000 000	5	.	95
II. Trifolium pratense L. S.	steril	.	.	.	3 000 000	5	.	95
II. Trifolium pratense L. S.	10 000	.	93	7	3 000 000	5	.	95
Trifolium repens L. S.	570	47	.	53	1 800 000	6	.	94
Trifolium hybridum L. S.	56	.	100	.	1 800 000	26	.	74
I. Onobrychis viciaefolia Scop. F.	100	.	67	33	720 000	.	.	100
II. Onobrychis viciaefolia Scop. S.	1300	.	.	100	1 800 000	26	.	74
III. Onobrych. viciaefol. Scop. F.	2000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Vicia sativa L. S.	70	.	20	80	1 800 000	26	.	74
Linum usitatissimum var. vulgare Schüb. et Mart. S.	20	.	15	85	1 800 000	26	.	74
I. Daucus carota L. F.	130	26	.	74	1 800 000	6	.	94
II. Daucus carota L. F.	steril	.	.	.	1 800 000	26	.	74
Achillea millefolium L. F.	4 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
e) Kulturgefäß nicht bedeckt, ungehinderter Licht								
III. Avena sativa L. S.	30 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
III. Avena sativa L. S.	35 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Hordeum vulgare L. S.	30 000	11	89	.	1 800 000	26	.	74
Triticum vulgare Vill. S.	20 000	.	100	.	1 800 000	26	.	74
Medicago sativa L. S.	8 300	8	92	.	1 800 000	26	.	74

1) Erhalten durch Addition der in den beiden folgenden Kolonnen enthaltenen Zahlen.

Keimpflanzen spielt auch hier Bacterium herbicola aureum eine wichtige, wenngleich nicht so dominierende Rolle, obwohl es in der Keimerde nicht nachgewiesen werden konnte. Daneben ist von großer Wichtigkeit das auch auf den Samen und Früchten vorkommende Bacterium fluorescens und Bact. putidum, welch letzteres hier zahlreicher konstatiert werden konnte als bei den auf sterilem Sand gezogenen Keimlingen. Nur in einem Falle gelang es einer typischen Bodenbakterie, dem Bacillus Megatherium, auf den Keimpflanzen sich festzusetzen und 30 Proz. der Gesamtbakterienflora auszumachen.

Durch die vorstehenden Untersuchungen über die Bakterienflora gesunder Keimpflanzen stand uns ein reiches Material zur Verfügung, das geeignet war, einen Beitrag zur Kenntnis des Einflusses der mit den Samen und Früchten in das Keimbeet gelangenden Bakterien auf die Mikroorganismen desselben zu liefern. Wir glaubten, die günstige Gelegenheit nicht unbenutzt lassen zu sollen und haben nach dieser Richtung hin einige Versuche ausgeführt. Die dabei gewonnenen Resultate seien an dieser Stelle in

Tabelle IV B.

Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den oberirdischen Teilen eines Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf dem Stengel des Keimlings				Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime auf den Blättchen des Keimlings			
Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Species
770 000	15	78	7	450 000	25	71	4	320 000	.	88	12
1 000	70	.	30	steril	.	.	.	1 000	70	.	30
43 000	39	.	61	42 000	38	.	62	1 000	60	.	40
42 000	33	34	33	24 000	33	34	33	18 000	33	34	33
840 000	85	.	15	600 000	99	.	1	240 000	50	.	50
8 000	9	44	47	2 000	12	50	38	6 000	8	42	50
128 000	33	67	.	8 000	75	25	.	120 000	30	70	.
15 400	.	18	82	400	.	.	100	15 000	.	20	80
12 250	50	49	1	250	60	10	30	12 000	50	50	.
8 000	.	70	30	steril	.	.	.	8 000	.	70	30
17 700	48	52	.	8 700	4	96	.	9 000	90	10	.
58 000	100	.	.	50 000	100	.	.	8 000	100	.	.
650	79	15	6	430	77	18	5	220	82	10	8
1 260	.	96	4	100	.	50	50	1 160	.	100	.
zutritt, Temperatur 1—12° C (Mittel 5°). Im Freien											
160 200	100	.	.	160 000	100	.	.	200	.	100	.
2 240	51	48	1	1 180	.	98	2	1 240	100	.	.
2 000	.	.	100	2 000	.	.	100	steril	.	.	.
200	.	100	.	steril	.	.	.	200	.	100	.
876 000	62	38	.	216 000	83	17	.	660 000	55	45	.

tunlichster Kürze mitgeteilt. Es gelangte Material aus den Keimbeeten zur Verarbeitung, das einerseits bei oder zwischen den Wurzeln, andererseits in einer Entfernung von ca. 1 cm von den Wurzeln der Pflänzchen und in rund 2 mm Tiefe entnommen worden war. Je 1 g der betreffenden Proben wurde mit 10 ccm sterilem Wasser in einer Reibschale gut zerrieben und mittels geeigneter Verdünnungen Gelatineplatten gegossen. Das Material aus den Keimbeeten entstammt den Versuchen, die den Einfluß von verschiedenen äußeren Bedingungen (Licht, Temperatur, Feuchtigkeit) auf die Entwickelung der Bakterienflora von Keimpflanzen dartun sollten, so daß die verarbeiteten Proben selbst verschiedenen Einflüssen ausgesetzt waren, doch konnte keine spezifische Wirkung auf die Mikroflora der Keimbeete festgestellt werden. Dies ist wahrscheinlich dadurch erklärlich, daß der wichtigste einwirkende Faktor, die Feuchtigkeit, in allen Fällen im Sand resp. in der Erde in gleichem Maße zur Geltung kam.

Die nachfolgende Tabelle V A zeigt uns, wie der als Keimbeet dienende ursprünglich sterile Sand während des Keimungsvorganges mit Bakterien infiziert wird.

Tabelle V A.

Besiedelung des als Keimbeet dienenden sterilisierten Sandes durch Mikroorganismen.

Pflanzenspecies		Same oder Frucht – Zahl u. Art der entwickelungsfähigen Keime				Sand bei oder zwischen den Pflanzenwurzeln – Zahl und Art der entwickelungsfähigen Keime in 1 g Sand				Sand ca. 1 cm von den Pflanzenwurzeln entfernt und ca. 2 mm unter der Oberfläche – Zahl und Art der entwickelungsfähigen Keime in 1 g Sand			
		Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime	Total	Proz. Bact. fluor.	Proz. Bact. herbicola aureum	Proz. Uebrige Keime
Triticum Spelta L. F.	Unter verschiedenen äußeren Bedingungen (Licht etc.) gekeimt	8 330	2	98		4 200 000		100		5 000 000	12	88	
						3 600 000	16	84		3 000 000	30	70	
						20 000 000	5	95		5 400 000		100	
						3 600 000	92		8	3 600 000	100		
Triticum Spelta L. S.	Unter verschiedenen äußeren Bedingungen (Licht etc.) gekeimt					16 200 000	80	20		3 600 000	16	84	
						2 250 000	13	87		5 000 000	20	80	
		43 300	14	86		669 000	2	98		5 400 000	27	73	
						3 600 000	96	3	1	18 000 000	100		
Triticum vulgare Vill. S.	Unter verschiedenen äußeren Bedingungen (Licht etc.) gekeimt					33 600 000	31	69		5 400 000	3	87	10
						37 600 000	30	70		14 000 000		100	
		3 100		100		6 000 000		100		20 000 000		100	
						1 800 000		100		360 000		100	

(Fortsetzung folgt.)

Kulturversuche mit Puccinien vom Typus der Puccinia Galii (Pers.).

[Aus dem Botanischen Institut Bern.]

Von **Th. Wurth.**

(Vorläufige Mitteilung.)

Im Sommer 1904 führte ich eine größere Reihe von Infektionsversuchen mit Puccinia Galii (Pers.) aus, die folgendes Resultat ergaben:

1. Puccinia Celakovskyana Bubák.

Dieser Form fehlen die Aecidien, und Bubák trennte sie deshalb von Puccinia Galii (Pers.) als vollständige Art ab[1]). Mit Teleutosporen, von Galium Cruciata stammend, konnte ich nur letzteres infizieren; immun blieben Galium Aparine, G. Mollugo, Asperula odorata. Uredoversuche ergaben Immunität auch für Galium aristatum, G. erectum, G. lucidum, G. palustre, G. purpurea, G. silvestre, G. verum, Asperula taurina. Dagegen wurde Galium pedemontanum vom Pilze befallen.

Die Abtrennung Bubáks erweist sich also auch in biologischer Beziehung als gerechtfertigt.

2. Puccinia Galii (Pers.).

a) Mit Uredo- und Teleutosporen, von Galium Mollugo herrührend, wurden infiziert Galium Mollugo, G. verum, G. silvaticum. Alle 3 trugen Pykniden-, Aecidien- und Uredolager. Auf Galium Aparine brachte es der Pilz bis zur Pyknidenbildung und starb nachher ab. Pilzfrei blieben Asperula cynanchica und odorata.

b) Teleutosporen, von Galium verum stammend, erzeugten eine Infektion auf Galium verum und Mollugo. Galium rubrum, Asperula cynanchica und odorata blieben gesund.

c) Teleutosporenmaterial auf Galium silvaticum infizierte nur letzteres. Die Pykniden, die sich auf Galium Mollugo gebildet hatten, gingen bald zu Grunde. Völlig gesund erwiesen sich Galium Aparine, G. Cruciata, G. rubrum, Asperula odorata. Auffallend war, daß sich Aecidien und Uredo gleichzeitig bildeten. Die Aecidienlager traten in gewissen Fällen sogar später und in geringerer Zahl auf als die Uredolager. Wir hätten hier also einen Uebergang zur Puccinia Celakovskyna Bubák, der Brachyform auf Galium Cruciata. Allerdings konnte ich bei einem an sonniger Stelle befindlichen Galium silvaticum andere Verhältnisse beobachten: Neben 6 schön entwickelten Aecidium-

1) Bubák in Verh. naturf. Ver. Brünn. Bd. XXXVII. p. 7.

lagern fand ich ein einziges noch junges Uredopolster. Immerhin steht fest, daß unter geeigneten Bedingungen die Bildung von Aecidien zeitlich und quantitativ hinter dem Auftreten von Uredolagern zurückbleibt, was für eine Ueberleitung zu Brachyformen spricht. Mit Uredo- und Aecidienmaterial ließ sich nur Galium silvaticum infizieren. Immun erwiesen sich Galium Aparine, G. erectum, G. lucidum, G. purpureum, G. rubrum, G. silvestre (?), G. verum. Da auch morphologische Unterschiede gegenüber den Formen auf Galum Mollugo und verum vorliegen, haben wir es hier mit einer selbständigen Form zu tun, die Otth in seinem Herbarium als Puccinia Galii silvatici bezeichnete.

d) Mit Teleutosporen auf Asperula odorata konnte ich nur Asperula odorata infizieren. Noch auffallender als bei Puccinia Galii silvatici (Otth) war hier die reichliche Entwickelung von Uredolagern am Pyknidenmycel und das spätere und spärliche Auftreten der Aecidien. Pilzfrei blieben Asperula cynanchica, A. laevigata. A. taurina, Galium Aparine, G. Mollugo, G. silvaticum, G. rubrum, G. verum. Von der Puccinia Galii (Pers.) auf Galium Mollugo und verum verschieden, muß diese Form als Puccinia Asperulae odoratae (Syn. Pucciniae Asperulae Fuckel p. p.[1]) bezeichnet werden.

e) Durch morphologische und jedenfalls auch biologische Unterschiede weicht die Puccinia auf Asperula cynanchica von obigen Formen ab, und ich bezeichne sie deshalb als Puccinia Asperulae cynanchicae (Syn. Puccinia Asperulae Fuckel p. p.).

Eine ausführliche Beschreibung dieser Kulturversuche und der morphologischen Untersuchungen wird später folgen.

Bern, Botanisches Institut, 5. Juli 1904.

Nachdruck verboten.

Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév.

Par **Albert Eberhardt,**

Professeur de gymnase à St-Imier.

Avec 1 tableau.

(Fin.)

Une seconde expérience en pleine terre, en tout semblable à la précédente, mais faite en août, n'a fourni que trois plantules avec vésicules sur les cotylédons, sur cinquante-trois qui avaient été recouvertes de zoosporanges. Nous ne pouvons attribuer ce résultat qu'à un mauvais état des conidies d'infection.

Examinons en quelques mots le développement des jeunes végétaux infectés. Les premières traces des pustules naissantes se montrent sous forme de rares taches verdâtres, puis jaunâtres, de

1) Fuckel, Symbolae Mycologicae. Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze. Wiesbaden 1869.

dimensions réduites, affectant plutôt la face supérieure des cotylédons. Avec le soulèvement de l'épiderme, la petite zone devient blanchâtre, puis blanche. Il arrive que les pulviscules n'apparaissent que sur les jeunes feuilles. Le bourgeon foliaire s'est à peine étalé que souvent la première feuille porte déjà une ou deux vésicules, s'annonçant par une tache verdâtre minuscule. Les feuilles augmentent leur nombre tout en s'allongeant et portent des pustules de plus en plus nombreuses surtout à la face inférieure. La tige sort du groupe de feuilles basilaires et montre souvent quelques vésicules; elle s'allonge, se ramifie et prend les divers aspects que nous avons déjà décrits.

En résumé:

Plante infectée: Lepidium sativum:

A l'abri:	Par immersion:	13 plants dont	10	avec résultat positif.
	Par aspersion:	9 „ „	7	„ „ „
	Par pulvérisation d'eau, et conidies:	12 „ „	4	„ „ „
Plein air:	50 plants, pulvérisation d'eau et conidies, 29 avec résultat positif.			
	48 plants, ni pulvérisation ni conidies, résultat négatif excepté un plant infecté accidentellement.			
Plein air:	53 plants, pulvérisation d'eau et conidies, 3 avec résultat positif.			

7[e] série. On a deux pots à fleurs, le no. 1 avec seize plantules de Lepidium sativum et le no. 2 avec vingt-cinq plants de Capsella bursa. Le 12 juillet, les pots nos. 1 et 2 sont infectés par immersion dans de l'eau avec zoospores de conidies cueillies sur Lepid. sativum. Le 31 juillet, le no. 1 montre neuf plants avec pulviscules sur les cotylédons. Quelques jours après, on a un total de onze plants avec vésicules dont sept en présentent sur les feuilles. Du 29 juillet au 15 août, le pot no. 2 montre douze plants de Capsella avec pulviscules soit sur les cotylédons, soit sur les feuilles.

Cette expérience est reproduite vers la fin de juillet et vers le milieu d'août. Dans les deux cas, on obtient des résultats positifs. C'est cependant l'infection du 12 juillet qui offre le plus de plants attaqués.

En résumé:

Plantes infectées: Lepid. sativum, Caps. bursa, par immersion.

Lepid. sativum:	16 plants infectés dont	11	avec résultat positif.
Caps. bursa:	25 „ „ „	12	„ „ „
Contrôles:	Résultat négatif.		

d) Infections avec conidies cueillies sur Brassica Rapa.

8[e] série. Les matériaux d'infection récoltés sur Brass. Rapa ont été rares. C'est la raison pour laquelle nos expériences ne sont pas nombreuses. Au commencement d'août, on trouve une seule inflorescence de cette Crucifère avec tige hypertrophiée et pustules jeunes. On sème immédiatement des graines de Brass. Rapa. Quelques jours après, les cotylédons de trente-neuf plants apparaissent. On cueille la branche de Brassica; elle est placée pendant deux jours dans un linge humide. Les conidies des pustules les plus gonflées sont mises dans l'eau. Dix-sept heures après, les zoospores sont assez nombreuses. On infecte par immersion neuf plantules

et douze autres servent de contrôle. Le 15 septembre, aucune plante, infectée ou non, ne montre de pulviscule. Les premières feuilles ne portent pas de parasite.

Dans la seconde semaine d'août, on découvre un nouvel axe fructifère avec pustules bien gonflées et même déchirées. Du semis de l'expérience précédente, il nous reste dix-huit plantules dont les cotylédons sont grands et verts et dont plusieurs montrent le bourgeon foliaire déroulant ses feuilles. Douze d'entre elles sont infectées par immersion (nos 1); les six autres (no 2) sont conservées comme échantillons-témoins. Parmi les no 1, trois exemplaires périssent. Vingt-deux jours après l'infection, les neuf qui restent montrent tous de rares pustules sur les jeunes feuilles. Trois plants sont conservés jusqu'à la fin de septembre; le parasite n'est plus visible qu'à la face inférieure d'une seule feuille sous forme de deux petites vésicules.

Les deux cultures précédentes, si contradictoires permettent de se demander si un certain état des cotylédons n'est pas indispensable pour la réceptivité de l'endophyte.

En résumé:

Plante infectée:	Brassica Rapa, par immersion.
1re expérience:	Résultat négatif.
2e „	12 plants infectés dont 9 avec résultat positif.
Contrôles :	Résultat négatif.

9e série. Vers la fin d'août, une belle station de Brass. Rapa infectée se développe dans un jardin. On sème diverses Crucifères et on va cueillir les Brassica maladives pour chacune des quatre expériences suivantes aussitôt que les plantules à infecter étalent leurs cotylédons. L'infection a lieu par immersion.

Le 4 septembre, on infecte huit plantules de chacune des espèces ou variétés suivantes: Brass. Rapa, Brass. oleracea (var. botrytis, capitata et congylodes), Brass. nigra, Brass. Napus. Le 19 septembre, trois plants de Brass. Rapa ont des pustules sur les cotylédons. Du 25 septembre au 8 octobre, trois nouvelles plantules ont des vésicules seulement sur les feuilles. Du 27 septembre au 4 octobre, Brass. oleracea var. botrytis a des vésicules sur les feuilles de quatre plantules; le 22 septembre, la var. capitata en porte sur les cotylédons d'un plant, et sur les feuilles de trois autres exemplaires du 24 au 29 septembre; la var. congylodes du 30 septembre au 10 octobre sur les feuilles de cinq plantules. Brass. nigra montre les 28 septembre et 5 octobre deux plants avec taches conidiales sur les feuilles. Brassica Napus ne présente aucun signe d'infection.

Trois autres essais sont entrepris les 6, 9 et 13 septembre sur les Crucifères suivantes: Brass. Rapa, Lepid. sativum, Capsella bursa, Iberis amara, Sinapis arvensis, Diplotaxis tenuifolia.

L'expérience du 6 septembre est la plus incomplète des trois. Le 20, deux plantules de Brass. Rapa portent des pustules sur les cotylédons. Les 21 et 22, deux nouveaux plants ont des vésicules.

Du 29 septembre au 9 octobre cinq autres exemplaires ont des pustules sur les feuilles. Les autres Crucifères restent saines.

L'infection du 9 septembre compte deux espèces attaquées. Le 24, des pustules apparaissent sur les cotylédons de deux plants de Diplotaxis. Jusqu'à la fin du mois, trois nouvelles plantules portent des vésicules. Dans les premiers jours d'octobre, quelques feuilles sont infectées. Du 3 au 8 octobre, Brassica Rapa montre des taches conidiales sur les feuilles de sept plantules.

Dans l'expérience du 13 septembre, Brass. Rapa, Sinap. arvensis et Diplotax. tenuifolia sont infectées. Le 28, trois plantules de Sinapis ont des pustules sur les cotylédons. Le 9 octobre, un plant montre des vésicules sur une feuille. Diplotaxis donne le 30 septembre des pustules sur les cotylédons de deux plants, et le 5 octobre sur deux feuilles d'un autre plant. Brassica fournit du 27 septembre au 10 octobre des pustules sur les cotylédons ou les feuilles de onze plantules.

En résumé: Plantes infectées par immersion.

1ère infection	Brass. Rapa:	8 plants infectés	dont 6	avec résultat positif.
	Brass. nigra:	8 „ „	„ 2	„ „ „
	Brass. Napus:	8 „ „		sans résultat.
	Brass. oleracea var. botrytis:	8 plants infectés	dont 4	avec résultat +
	var. capitata:	8 „ „	„ 4	„ „ +
	var. congylodes:	8 „ „	„ 5	„ „ +

		2e infection.	3e infection.	4e infection.
Brass. Rapa:	Résultat	+	+	+
Lepid. sativum:	„	—	—	—
Caps. bursa:	„	—	—	—
Iberis amara:	„	—	—	—
Sinap. arvensis:	„	—	—	+
Diplot. tenuifolia:	„	—	+	+

e) Infections avec conidies cueillies sur Arabis alpina.

10e série. Cette suite d'expériences est entreprise sur Arabis alpina avec des conidies provenant de la même Crucifère. Pour avoir des matériaux à notre disposition, nous avons récolté une vingtaine de rejets stériles d'Arabis dont les feuilles inférieures seules présentaient des pustules. Les autres feuilles portaient des taches verdâtres ou un bossèlement annonçant la formation de nouvelles vésicules. En plaçant ces rejets dans un vase plein d'eau, les pustules se formaient successivement sur les feuilles supérieures. On put ainsi conserver des rameaux pendant près de deux semaines.

Dans le mois de juillet, on répète à sept reprises des essais d'infection d'Arabis alpina. Nos notes sur cette série d'expériences ne mentionnent pas l'état plus ou moins avancé de l'épanouissement des cotylédons et du bourgeon foliaire. Car, à ce moment, notre but était de rechercher la possibilité d'infection, et non l'état le plus favorable de l'hôte à la réceptivité du parasite. Pour ces essais de culture de l'endophyte, les plantules provenaient de deux semis faits à huit jours d'intervalle. Les graines furent lentes à germer; lors des infections, les unes montraient seulement les deux petits cotylédons, les autres possédaient déjà un bourgeon foliaire.

Le 10 juillet, on infecte des plantules par immersion. Ce n'est que le 4 août que de minimes pulviscules apparaissent sur les premières feuilles, les cotylédons s'étant fanés. Trois plantules sur douze portent des taches conidiales.

Cinq autres essais d'infection, pratiqués dans des conditions identiques, ne sont qu'une suite d'insuccès.

L'expérience du 29 juillet est la seule qui ait fourni des résultats très positifs. Un certain nombre de plantules ont déjà de petites feuilles; d'autres plus nombreuses n'ont que des cotylédons et un bourgeon foliaire. L'infection des plants se fait par immersion. Vingt-trois à trente jours après, on voit des pulviscules sur les feuilles de neuf d'entre eux; un autre plant montre une vésicule sur un cotylédon. Ces végétaux sont conservés jusqu'à la mi-septembre; les feuilles se développent et ne portent que de rares taches conidiales.

Un essai fait en pleine terre, au moyen de conidies jetées sur des plantules arrosées d'eau, ne donne aucun résultat.

La 10e série de recherches semble montrer que le parasite exige un certain état de développement de l'hôte pour pénétrer dans les tissus de ce dernier. De nouvelles expériences seules fixeront si notre manière de voir est conforme à la réalité.

En résumé:

Plante infectée: Arabis alpina.

Par immersion:	2	infections dont les résultats sont	positifs.
" " :	5	" " " " "	négatifs.
En plein air:	1	" " " " "	négatifs.

11e série. Cette série a été entreprise sur Arabis alpina, en pleine nature, dans la Combe du Bez, au S. de Corgémont. Dès la fin de juin, les nombreuses Arabis qui tappissent les pierrailles de la combe commencent à porter des pustules de Cystopus qui vont en augmentant jusqu'en septembre. On choisit un bel exemplaire d'Arabis, avec nombreuses vésicules sous les feuilles, situé au bord d'un bloc de pierre recouvert de terre. A quelques centimètres au-dessous, un jardinet de quelques décimètres carrés est établi et divisé en quatre parties. Chacune de ces dernières est destinée à recevoir de semaine en semaine un semis d'Arabis alpina. Les semis s'effectuent les 28 juin, 3, 9 et 19 juillet. Les graines germent lentement. Ce n'est qu'à fin juillet et commencement d'août que les cotylédons sont étalés; un certain nombre sont accompagnés d'un bourgeon foliaire. Le semis du 3 juillet semble avoir été le plus favorisé. Du 31 juillet au 3 août, une pluie abondante tombe dans notre région. Du 24 au 31 août, on trouve des pulviscules sur les petites feuilles de huit plantules. Le semis du 28 juin ne montre que deux plants avec chacun une pustule sur une petite feuille. Les autres semis ne donnent aucun résultat.

Il semblerait donc que dans ces recherches, la pluie ait coïncidé avec l'état des jeunes Arabis favorable à l'infection seulement dans le semis du 3 juillet et dans quelques plantules du semis du 28 juin.

En résumé:

Plante infectée: Arabis alpina.
En pleine nature: 2 infections avec résultat positif.
" " " : 2 " " " négatif.

12ᵉ série. En août et septembre, plusieurs essais sont tentés en vue d'infecter les espèces suivantes: Arabis alpina, Arabis Halleri, Arabis hirsuta et Arabis Turrita. Les résultats sont très irréguliers. Pour avoir des conidies à disposition, on cueille à trois reprises des rejets stériles d'Arabis alpina infectée que l'on place dans une vase plein d'eau.

Les infections sont faites par immersion: celles des 6 et 16 août au moyen de la première récolte d'Arabis maladives; celles des 23 août et 2 septembre avec la seconde; celle du 19 septembre avec des matériaux fraîchement cueillis.

L'essai du 6 août a été presque négatif. Arabis alpina seule fournit deux plantules avec quelques taches conidiales sur les feuilles.

L'expérience du 16 août donne, de vingt à trente jours après l'infection, deux Arabis Halleri et neuf Arabis alpina avec pustules.

Les essais des 23 août et 2 septembre sont négatifs.

L'infection du 19 septembre donne de bons résultats. Le 4 octobre, deux plantules d'Arabis alpina et une d'Arabis hirsuta portent quelques pulviscules sur les cotylédons. Du 14 au 25 octobre, on trouve sept exemplaires d'Arabis alpina (sur 9 infectés), deux d'Arab. Halleri (sur 7), quatre d'Arab. hirsuta (sur 10) et deux d'Arabis Turrita (sur six), qui présentent de rares pustules sur leurs feuilles, plus rarement sur leurs cotylédons.

En résumé: infection par immersion.

	Infections:	1ʳᵉ	2ᵉ	3ᵉ	4ᵉ	5ᵉ
Arabis alpina:	Résultats:	+	+	—	—	+
Ar. Halleri:	"	—	+	—	—	+
Ar. hirsuta:	"	—	—	—	—	+
Ar. Turrita:	"	—	—	—	—	+

13ᵉ série. En août et septembre, on infecte à plusieurs reprises les Crucifères suivantes: Arabis alpina, Lepidium sativum, Iberis amara, Brassica Napus, Brassica nigra. Les matériaux d'infection sont les mêmes que dans la série précédente.

Dans l'essai du 9 août, huit plantules de chacune des espèces mentionnées ci-dessus sont infectées par immersion. Dix-sept à vingt-trois jours après, Lepid. sativum donne cinq plantules avec pustules sur les cotylédons. Arabis alpina offre quatre plants avec vésicules sur les feuilles, dans les derniers jours d'août. Les autres Crucifères restent indemnes.

L'infection du 23 août comporte dix plantules de chaque espèce. Deux seuls exemplaires d'Arabis alpina ont des pulviscules. Les autres espèces ne sont par infectées.

Dans l'expérience du 3 septembre, dix plantules de chaque Crucifère sont immergées dans l'eau à zoospores. Le 15 septembre,

trois pieds de Lepidium et deux d'Iberis montrent des pulviscules sur les cotylédons. Dans la seconde moitié de septembre, on compte un total de sept plantules de Lepidium et cinq d'Iberis avec vésicules sur les cotylédons ou les jeunes feuilles. Arabis alpina fournit le 18 du mois une plantule avec pustules sur un cotylédon, et au commencement d'octobre on compte cinq exemplaires avec pulviscules sur les feuilles. Les Brassica ne montrent pas trace du parasite.

Deux jeunes exemplaires d'Iberis amara, avec infection des premières feuilles, nous ont permis de faire une constatation bien inattendue. Autour des quelques pustules que portaient ces organes s'observaient une couronne verdâtre passant au violacé contre la vésicule. L'étude microscopique des limbes a montré un abondant mycélium avec haustories sous les conidiophores, et l'assise de parenchyme infra-épidermique colorée en rouge violacé au plancher des pustules.

En résumé: Infections par immersion.

		Infections: 1ère	2e	3e
Arabis alpina:	Résultats:	+	+	+
Lepid. sativum:	„	+	—	+
Iberis amara:	„	—	—	+
Brass. Napus:	„	—	—	—
Brass. nigra:	„	—	—	—

14e série. En août on profite du temps souvent pluvieux pour des infections en plein air. Les Crucifères sont réparties par groupes dans six pots à fleurs: Arabis alpina, Arab. Halleri, Arab. hirsuta (pot nº 1); Cardamine pratensis et Card. amara (pot nº 2); Iberis amara et Lepidium sativum (pot nº 3); Capsella bursa et Senebiera coronopus (pot nº 4); Sinapis arvensis et Raphanus sativus (pot nº 5); Brassica nigra et Bras. oleracea (pot nº 6).

Le 1er août au matin, les six pots sont exposés à la pluie. On secoue des Arabis alpina infectées: la poussière conidiale recouvre les plantules. On place ensuite sur chaque pot une petite gerbe des mêmes Arabis et le tout est laissé à la pluie pendant trois jours. Les matériaux d'infection sont enlevés, et les pots sont transportés dans une galerie vitrée. Le 14 août, le nº 3 montre quatre Iberis et six Lepidium avec pustules sur les cotylédons. Le 19, on a un total de huit Iberis et six Lepidium attaqués. Le 23, le nº 2 possède cinq Card. amara et deux Card. pratensis avec vésicules. Le pot nº 4 a deux Caps. bursa attaquées le 22, et deux Senebiera le 27. Ce même nº 4 montre encore du 29 août au 3 septembre trois nouvelles plantules de Capsella et deux de Senebiera avec pulviscules. Le pot nº 1 est le plus tardif; il montre le 28, trois Arabis alpina et deux Arabis hirsuta avec taches conidiales, et le 31, deux nouvelles Arabis alpina. Les pots nos 5 et 6 ne donnent aucun résultat.

Deux autres infections, entreprises les 8 et 22 août, donnent des résultats moins complets que ceux de l'expérience précédente.

Dans l'infection du 8 août, quatre plantules d'Arabis alpina, deux de Cardamine amara, trois de Lepidium sativum et une de Capsella bursa, offrent des pustules. L'expérience du 22 août fournit deux plants d'Arabis alpina, un de Cardamine pratensis, deux d'Iberis amara et un de Capsella bursa avec vésicules conidiales.

Le résumé de cette série est fusionné avec celui de la série suivante.

15e série. Elle a été entreprise parallèlement à la précédente, avec des matériaux des mêmes récoltes, et sur les mêmes Crucifères. Mais ici, on a infecté les plantules par immersion dans l'eau avec zoospores. Le 2 août, on infecte une dizaine de plants de chaque espèce. Les 14 et 15 août, on remarque cinq Iberis amara et six Lepidium sativum avec pustules sur les cotylédons. Le 18, ces deux Crucifères donnent encore quelques plants avec vésicules, de sorte que le 21, on a un total de sept Iberis et neuf Lepidium avec pulviscules sur les cotylédons. Dans les derniers jours d'août, quelques pustules se montrent sur les jeunes feuilles de ces deux espèces. Le 17 août, deux Senebiera ont des vésicules sur les cotylédons. Jusqu'à la fin du mois, on compte un total de cinq plantules avec taches conidiales. Au commencement de septembre, une Senebiera a ses feuilles infectées. Le 22 août, Capsella bursa donne deux plants infectés; ce nombre augmente jusqu'à six dans les derniers jours du mois. Vers le milieu de septembre, on retrouve le parasite sur quelques feuilles. Du 20 août au 5 septembre quatre Cardamine amara ont des pustules sur les cotylédons; l'une des plantules montre sur une feuille deux taches jaunâtres qui restent stationnaires. Un examen microscopique révèle sous les taches un enchevêtrement de hyphes avec haustories caractéristiques. Arabis alpina donne dans les derniers jours d'août deux pustules sur un cotylédon, et quelques taches conidiales sur les jeures feuilles de trois autres plants. Les autres espèces d'Arabis, les Brassica, Sinapis et Raphanus se développent sans traces de l'endophyte.

Les infections des 8 et 22 août mènent à des résultats moins complets. L'essai du 8 août fournit cinq espèces pourvues de taches conidiales: Arabis alpina, avec trois plantules dont les pustules se développent du 29 août au 9 septembre; Iberis amara, avec cinq plants dont les vésicules apparaissent du 20 au 29 août; Lepidium sativum avec trois exemplaires dont les pulviscules se montrent du 21 au 28 août; Capsella bursa avec deux plants infectés les 28 et 30 août; Senebiera coronopus avec une plantule maladive le 25 août.

L'infection du 22 août ne donne que quelques plants infectés des espèces suivantes: Arabis alpina, Iberis amara, Lepid. sativum et Seneb. coronopus.

Résumé des séries 14ᵉ et 15ᵉ:

		Infections en plein air 1ère	2ᵉ	3ᵉ	Infections à l'abri 1ère	2ᵉ	3ᵉ
Arabis alpina:	Résultats:	+	+	+	+	+	+
Ar. Halleri:	„	—	—	—	—	—	—
Ar. hirsuta:	„	+	—	—	—	—	—
Cardamine pratensis:	„	+	—	+	—	—	—
Card. amara:	„	+	+	—	+	—	—
Iberis amara:	„	+	—	+	+	+	+
Lepidium sativum:	„	+	+	—	+	+	+
Capsella bursa:	„	+	+	+	+	+	—
Senebiera coronopus:	„	+	—	—	+	+	+
Sinapis arvensis:	„	—	—	—	—	—	—
Raphanus sativus:	„	—	—	—	—	—	—
Brassica nigra:	„	—	—	—	—	—	—
Brass. oleracea:	„	—	—	—	—	—	—

f) Infections avec conidies cueillies sur Tragopogon pratensis.

16ᵉ série. Une intéressante expérience a été tentée par deux fois au commencement d'août. Un champ non fauché et inculte nourrit de beaux exemplaires de Tragopogon pratensis portant sur les feuilles de nombreuses pustules de Cystopus Tragopogonis. On sème des graines de Scorzonera hispanica et de diverses Crucifères. Lorsque les cotylédons sont étalés, on cueille les Tragopogon maladifs et on procède, à trois jours d'intervalle, à l'infection par immersion de deux groupes égaux composés des espèces suivantes: Caps. bursa, Brassica Rapa, Sinapis arvensis, Arabis alpina, Berteroa incana et Scorzonera hispanica. C'est le 29 août que quelques plantules de Scorzonera montrent des pulviscules sur les cotylédons. Dans la première quinzaire de septembre, une douzaine de ces jeunes plants sont manifestement infectés. Quant aux Crucifères, les deux essais donnent un résultat négatif.

En résumé, infection par immersion:

Scorzonera hispanica:	résultat positif
Crucifères:	„ négatif.

g) Autres recherches.

D'autres essais d'infection avec Cystopus candidus ont été tentés sur d'autres Crucifères: Alliaria officinalis, Cheiranthus Cheiri, Iberis umbellata, Berteroa incana, Neslia paniculata, Thlaspi arvense, Sisymbrium officinale, Sisymbr. Sophia et même sur Reseda odorata. Mais la surveillance minutieuse des nombreuses plantules, la place considérable exigée par les pots à fleurs, et la délicatesse des matériaux d'infection, nous ont bien vite fait abandonner ces recherches par trop multiples, pour concentrer notre attention sur un groupe plus modeste de Crucifères.

Citons aussi les quelques recherches d'infection au moyen d'oospores, infections entreprises en avril et mai 1903. Elles sont si incomplètes que nous n'en dirons que quelques mots dans le présent travail.

En octobre 1902, on recueille des tiges et des fruits de Le-

pidium sativum avec oospores. Pour la conservation de ces dernières, on emploie la même méthode que celle que préconise M. le Prof. Ed. Fischer pour les téleutospores d'Urédinées. Les organes attaqués sont placés dans un petit sac de toile que l'on suspend en plein air, de sorte que la pluie, le gel et la neige peuvent librement exercer leur influence sur les oospores. En mars et avril 1903, le sac de toile est suspendu à l'abri des pluies. On ensemence deux pots à fleurs avec des graines de Lepidium et de Capsella bursa. On jette en même temps à la partie superficielle de l'humus, de l'eau dans laquelle on a délayé les tissus pulvérulents de rameaux remplis d'oospores. Plus de la moitié des Lepidium et Capsella portent des pustules sur les cotylédons ou les jeunes feuilles.

3. Résultats généraux.

Si nous envisageons l'ensemble des résultats obtenus dans nos infections, nous voyons que les conidies cueillies:

1° sur Capsella bursa pastoris peuvent infecter: Caps. bursa pastoris, Lepid. sativum, Iberis amara, Arabis alpina;

2° sur Capsella Heegeri peuvent infecter: Caps. bursa pastoris, Lepid. sativum;

3° sur Lepidium sativum peuvent infecter: Lep. sativum, Capsella bursa pastoris;

4° sur Brassica Rapa peuvent infecter: Brass. Rapa, Brass. oleracea (var. botrytis, capitata, congylodes), Brass. nigra, Sinapis arvensis, Diplotaxis tenuifolia;

5° sur Arabis alpina peuvent infecter: Arab. alpina, Arab. hirsurta, Arab. Halleri, Arab. Turrita, Lepid. sativum, Iberis amara, Cardamine pratensis, Card. amara, Caps. bursa pastoris, Senebiera coronopus;

6° sur Tragopogon pratensis ne peuvent pas infecter les Crucifères, mais bien Scorzonera hispanica.

7° Les oospores récoltées sur Lepidium sativum peuvent infecter: Lep. sativum, Caps. bursa pastoris.

Les résultats négatifs n'infirment en rien la probabilité d'un seul Cystopus habitant les Crucifères. Car, à maintes reprises, il nous était impossible d'obtenir l'infection d'une plante donnée, tandis que dans une autre expérience, le même végétal se laissait pénétrer par le mycélium de l'endophyte.

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, il est plausible de supposer que les Crucifères n'exigent pas seulement pour être infectées des cotylédons étalés, mais encore un certain âge des cotylédons, et peut-être même un certain développement des premières feuilles.

Au reste, les résultats positifs relatés dans nos séries de recherches donnent une valeur toute spéciale à l'hypothèse de l'unité d'espèce. Ces preuves biologiques, quoique partielles encore, s'ajoutent aux preuves morphologiques. Ces dernières résident dans la

forme des organes du parasite, ainsi que dans les effets hypertrophiques sur les plantes nourricières. Les conidies, examinées sur plus de vingt espèces de Crucifères (herbiers de l'Institut botanique de Berne, du Polytechnicum de Zurich, et le nôtre, ainsi que sur une douzaine d'espèces fraîches) ne montrent pas de différence d'une Crucifère à l'autre. Le diamètre et la forme plus ou moins ovalaire peuvent varier dans des chapelets conidiaux disposés côte à côte. Les oospores offrent des variations assez sensibles dans les aspérités de l'exospore, mais cette diversité se retrouve dans les oospores cueillies côte à côte sur une Crucifère donnée. En outre, les hypertrophies et les aberrations histologiques que provoque l'endophyte sur l'hôte sont d'un type général qu'on retrouve dans les genres les plus éloignés.

Nous ne pouvons pas, dans ce petit travail, tirer de conclusion formelle au sujet de l'unité d'espèce. Trouverons-nous peut-être dans nos recherches ultérieures deux espèces biologiques, l'une du groupe Capsella — Lepidium — Arabis, l'autre du groupe Brassica — Sinapis — Diplotaxis? On voit déjà par nos recherches que cette spécialisation du parasite, si elle existe n'est pas aussi stricte que la spécialisation des Urédinées, mise en lumière surtout par les travaux du Prof. Ed. Fischer et d'un groupe de ses élèves.

Si le champ de recherche que présente Cystopus est encore vaste et souvent ardu, on voit combien l'étude de ce genre est intéressante. tant au point de vue des aberrations qu'il provoque qu'à celui des infections expérimentales.

Il nous reste encore un devoir à accomplir en terminant notre travail: c'est de remercier bien cordialement notre maître, M. le Prof. Dr. Ed. Fischer, pour ses excellents conseils et pour tout l'intérêt qu'il nous a porté dans le cours de nos recherches.

Explication des figures.

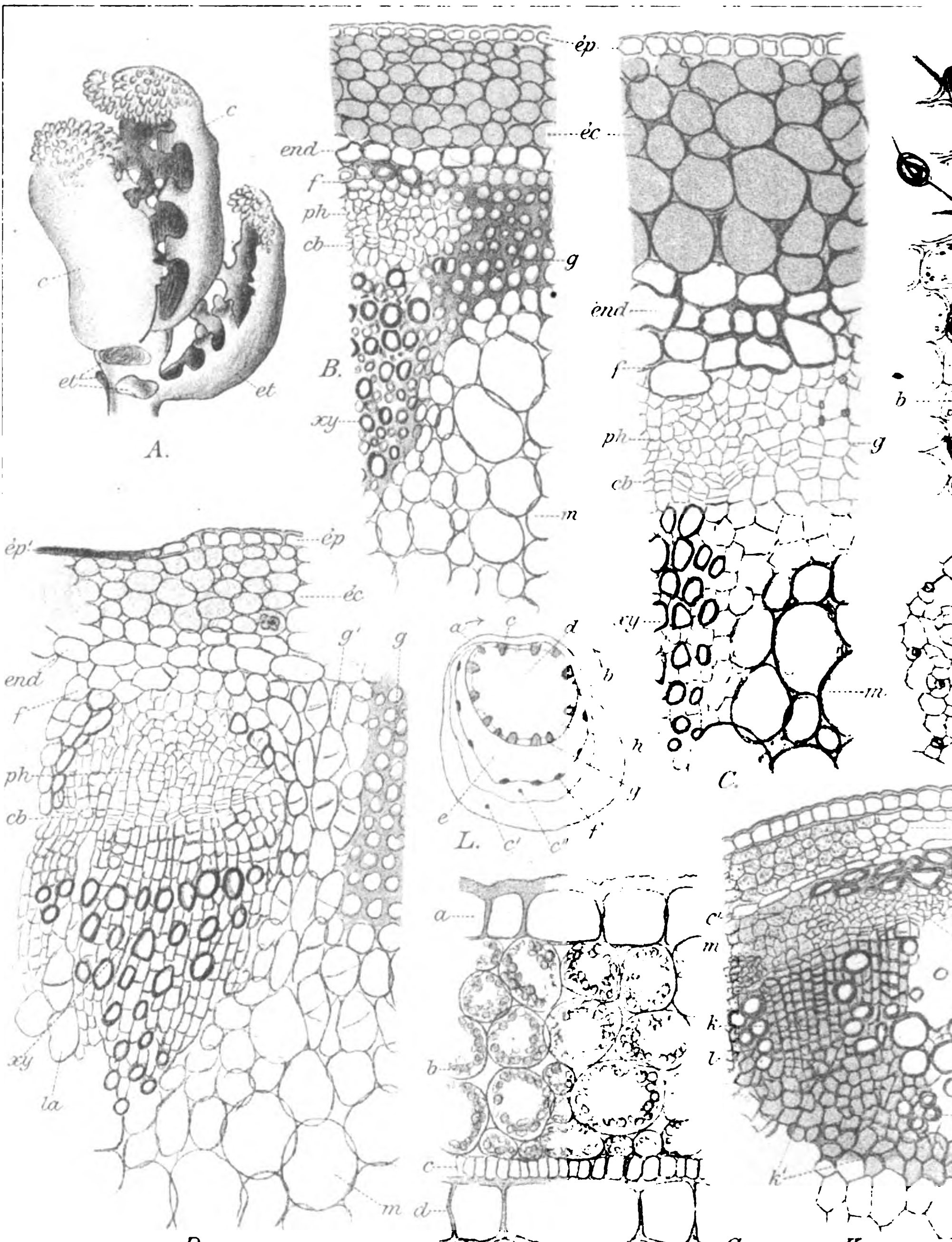
Tous les dessins ont été faits à la chambre claire, excepté la Fig. P dessinée à la loupe.

Fig. A. Capsella bursa pastoris, androcée et gynécée d'une fleur hypertrophiée. *cc* les deux carpelles non soudés avec appendices stigmatiformes terminaux et ovules marginaux dont on voit le nucelle et le tégument en formation; *ét* une étamine très semblable aux carpelles; *ét'* les autres étamines coupées, passant vers le bas à des formes plus foliacées. Grossissem. 15:1.

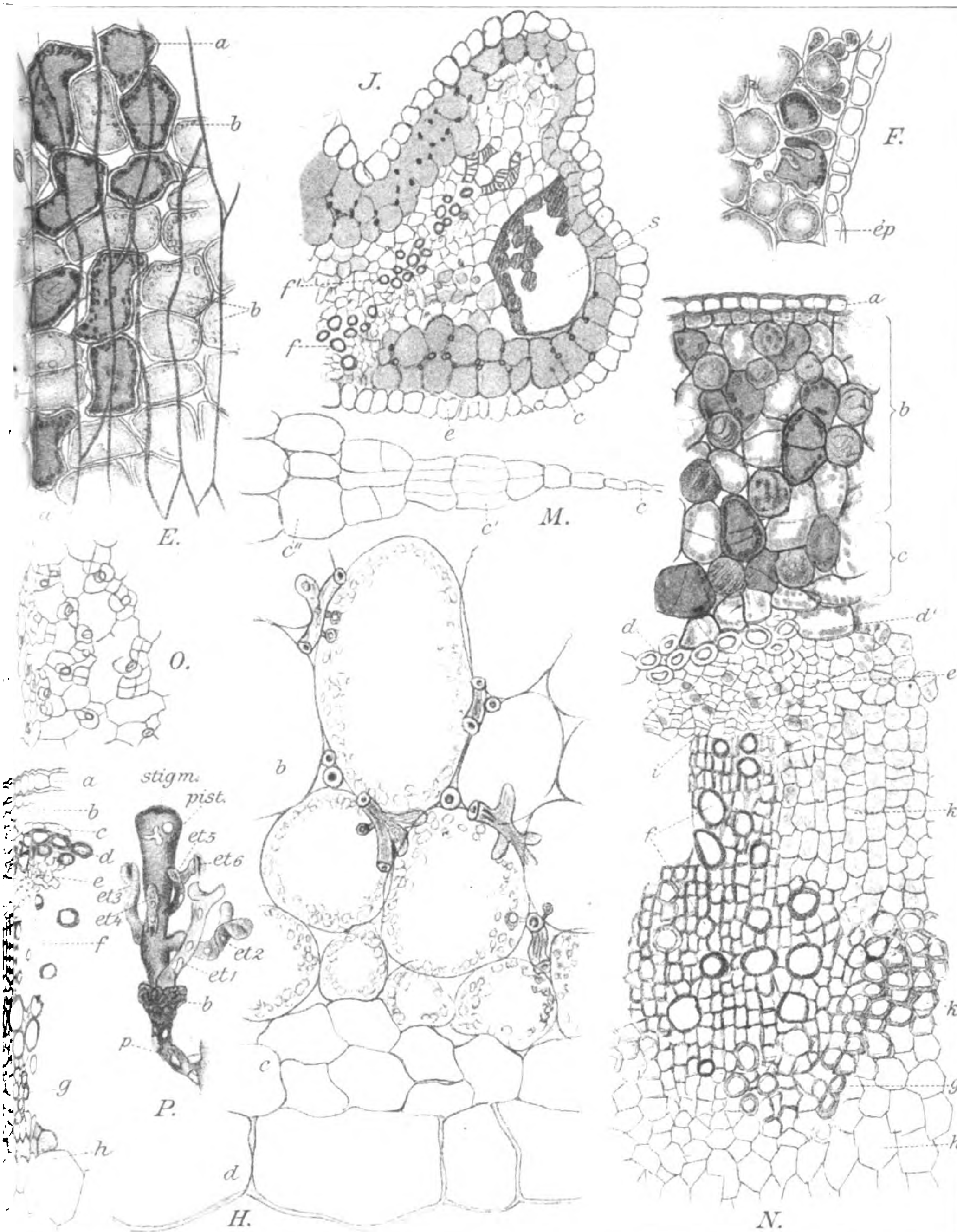
Fig. B. Capsella bursa pastoris, coupe transversale de la tige saine; on a représenté la moitié d'un faisceau libéro-ligneux et un espace interfasciculaire; *ép* épiderme; *éc* écorce avec chlorophylle; *end* endoderme; *f* fibres sclérenchymateuses dorso-libériennes; *g* gaîne sclérenchymateuse interfasciculaire; *m* moelle; *ph* phloème; *xy* xylème. Grossis. 115:1.

Fig. C. Idem, mais d'une tige infectée par Cystopus candidus; les lettres ont la même signification que dans Fig. B. Grossiss. 115:1.

Fig. D. Idem, mais d'une tige infectée par Peronospora parasitica; *ép* épiderme; *ép'* épiderme desséché et bruni par le passage des conidiophores; *éc* écorce avec chlorophylle et nombreuses haustories intracellulaires et hyphes intercellulaires; *end* endoderme souvent avec haustories; *f* fibres dorso-libériennes, souvent avec haustories; *ph* phloème avec cambium très actif (*cb*); *xy* xylème à files de cellules en éventail; *g* gaîne sclérenchymateuse intacte, à parois cellulaires amincies seulement contre le faisceau (*g'*) et alors remplie de haustories; *m* moelle avec haustories; *la* file radiale de cellules à parois minces allant jusque dans le phloème et souvent remplies de haustories. 115:1.



Verlag v. Gustav



Fischer, Jena.

Lith Anst v. K. Wesser, Jena

Fig. E. Capsella bursa pastoris, coupe tangentielle d'une tige hypertrophiée par Cystopus candidus; l'épiderme est au fond de la figure, la couche externe de l'écorce est vers le spectateur. *a* cellules violettes de l'écorce; *b* cellules vertes de l'écorce; en dessous les longues cellules de l'épiderme. 225 : 1.

Fig. F. Idem, coupe transversale d'une tige d'inflorescence avec Cyst. cand.; le parasite s'avance des assises internes de l'écorce vers l'assise sous-épidermique dont il contourne les cellules en les rendant violettes; on voit de jeunes conidiophores. 225 : 1.

Fig. G. Idem, coupe transversale du péricarpe d'un jeune fruit sain long de $3^1/_2$ mm; *a* épiderme externe; *b* parenchyme chlorophyllien; *c* assise fibro-palissadique non encore épaissie; *d* épiderme interne. 460 : 1.

Fig. H. Idem, coupe transversale du péricarpe d'un fruit hypertrophié par Cyst. cand.; même lettres que dans Fig. G. On n'a représenté qu'une partie de la coupe à cause de ses dimensions. 460 : 1.

Fig. J. Idem, coupe transversale d'une anthère hypertrophiée par Cyst. cand.; *e* épiderme irrégulier et à stomates; *c* cellules chlorophylliennes correspondant aux cellules à épaississements spiralés; *s* sac pollinique à grains de pollen écrasés en une couche brune pariétale; *f* et *f'* éléments dispersés du faisceau. 175 : 1.

Fig. K. Lepidium sativum, coupe transversale d'une tige saine. *a* épiderme; *b* parenchyme cortical; *c* endoderme; *d* fibres dorso-libériennes; *e* phloème; *f* xylème avec gros vaisseaux et fibres ligneuses en séries radiales; *g* xylème primaire; *h* moelle; *i* cambium; *k* fibres lignifiées secondaires interfasciculaires; *k'* gaîne s'appuyant contre la moelle; *l* petit faisceau secondaire interfasciculaire; *m* parenchyme chlorophyllien secondaire, s'appuyant contre le péricycle (*c'*). 115 : 1.

Fig. L. Idem, coupe transversale d'une tige attaquée d'un côté par Cyst. cand., et saine de l'autre. *a* à *b* partie saine; *c* écorce; *c'* écorce attaquée; *d* moelle complètement saine; *e* liber et fibres secondaires interfasciculaires, le tout très hypertrophié; *f* faisceaux dorso-libériens; *g* xylème sain; *h* gaîne périmédullaire; *c''* espace occupé par l'endoderme très anormal. 22 : 1.

Fig. M. Idem, partie de la coupe Fig. L; endoderme au passage de la partie saine à la partie hypertrophiée. *c* endoderme normal; *c'* endoderme se divisant et s'hypertrophiant (*c''*) jusqu'à former des cellules chlorophylliennes semblables aux cellules corticales. 115 : 1.

Fig. N. Lepidium sativum, coupe transversale d'une tige hypertrophiée par Cyst. cand. *a* épiderme; *b* les 4 assises corticales hypertrophiées, divisées, à cellules en partie violettes, méats avec nombreuses oospores; *c* endoderme très anormal et d'aspect cortical; *d* fibres; *d'* péricycle; *e* phloème; *f* vaisseaux du bois avec fibres ligneuses radiales; *g* vaisseaux primaires; *h* moelle; *i* cambium; *k* fibres secondaires à parois minces, et parenchyme; *k'* gaîne périmédullaire 115 : 5.

Fig. O. Idem, épiderme externe d'un fruit de 5 mm de long, très hypertrophié par Cystopus candidus, vu de face. On voit la formation de nombreux stomates. 115 : 1.

Fig. P. Brassica Rapa, une fleur attaquée par Cyst. cand.; on a enlevé le calice et la corolle qui étaient en spirale serrée sur le bourrelet *b*; les étamines (ét. 1 à 6) sont en spirale sur une colonne supportant le pistil. 2 : 1.

Die Schwarzfäule des Kohls.

Von **W. Brenner,** Basel.

Mit 6 Fig.

In den letzten Jahren sind hauptsächlich von Amerika aus eine ganze Anzahl von Bakterien beschrieben worden, welche an Pflanzen pathologische Erscheinungen hervorrufen sollen, am eingehendsten gewiß die sogenannte Pseudomonas campestris (Pammel) Smith. Der Gedanke, daß die dem tierischen Leben so gefährlichen Mikroorganismen auch sich an Pflanzen vergreifen sollten, war neu und mußte um so mehr bei vorsichtigen Lesern auf Widerspruch stoßen, als das Krankheitsbild, das hierbei entworfen wurde,

ein in vielen Punkten von dem der tierischen Bakteriosen abweichendes war. Es war namentlich Professor A. Fischer, der den Untersuchungen von Smith mit prinzipiellen Bedenken entgegentrat, davon ausgehend, daß die Lebensbedingungen für Parasiten im Pflanzenleib doch ganz andere sind als im Tierkörper. Während ihnen hier in den Blutbahnen fast unerschöpfliche Nahrungsquellen zu Gebote stehen, ist dort die Hauptmasse der Nährstoffe in allseitig geschlossene Zellen abgesperrt, und es fragte sich doch, ob die Wasserbahnen oder gar die Intercellularen Bakterien als Nährböden zusagen konnten.

Auf Veranlassung von Professor Fischer nahm ich im Herbst 1902 die Frage auf und suchte mir über die Infektionsmöglichkeiten sowie den Verlauf der Krankheit Rechenschaft zu geben. Wenn ich auch großenteils die Beobachtungen von Smith nur bestätigen kann, so glaube ich doch, gerade was die angeführten Punkte betrifft, dieselben wesentlich ergänzen zu können.

Es hielt nicht schwer, in der Umgebung Basels die als Schwarzfäule bezeichnete Krankheit an Kohlblättern aufzufinden. Schon von H. A. Harding (3) war sie aus Deutschland und der Schweiz nachgewiesen, sie scheint also in der Tat überall mit den Kohlpflanzungen heimisch zu sein. Auch hier fand ich sie an allen angebauten Kohlrassen, wie Kopf-, Weiß-, Rot-, Blumen- und Rosenkohl, auch an Kohlrabi. Zu meinen Versuchen benutzte ich stets Kopfkohl. Man darf sich nun aber unter einer kranken Pflanze nicht stets eigentlich krüppelhafte Exemplare vorstellen. Gerade die typischen Krankheitsbilder finden sich an ganz gesund aussehenden kräftigen Individuen. Vollständige Vernichtung der Pflanze im Verlauf eines Jahres gehört zu den Ausnahmen, wenn wenigstens die Infektion nicht schon in der ersten Jugendzeit stattgefunden hat.

Ich brauche das Krankheitsbild nicht näher zu schildern, da dies schon genugsam, auch an Hand von Tafeln, geschehen ist. Die Aderung eines angesteckten Blattes wird schwarz, die dazwischenliegende Blattsubstanz gelb und trocken. Aber auch hier ist hervorzuheben, daß diese Kennzeichen sehr selten am ganzen Blatte, noch viel weniger an der ganzen Pflanze auftreten, sondern sich in den meisten Fällen auf kleinere Partieen der Blattfläche beschränken.

Die Isolierung der in den schwarzen Adern massenhaft auftretenden Bakterien lieferte mir die von Smith beschriebenen wachsgelben Kolonieen von Pseudomonas campestris, die ich nun durch Ueberimpfen auf Nähragar und Gelatine zu den Versuchen benutzte. Es ist ein kleines, meist nur schwach bewegliches Stäbchen, von 0,5—0,7 μ Breite und 1,2—1,5 μ Länge, das in den Nährpflanzen stets einzeln ist, in Kulturmedien dagegen häufig Paare bildet. (Fig. 1 und 2.)

Künstliche Infektionen an jüngeren und älteren Blättern hatten mit wenigen Ausnahmen, die auf zu rasche Austrocknung der Wunde zurückzuführen waren, Erfolg. Mit einer sterilisierten Nadel wurden an bestimmten Stellen der Spreite oder des Stengels Stiche gemacht und mit der Platinöse ein Kulturtropfen aufge-

tragen. Wie dies auch Smith erwähnt, dauerte es gewöhnlich 14 Tage bis 3 Wochen, bevor die ersten Anzeichen der Krankheit deutlich sichtbar wurden. Es war jedoch, namentlich für die Schnelligkeit und Intensität der Weiterverbreitung der Infektion durchaus nicht gleichgültig, wo dieselbe ihren Anfang genommen hatte. Zu den besten Resultaten gelangte ich stets, wenn der Impfstich in der unteren Hälfte des Primärnerven gemacht wurde. Von sekundären oder Randnerven aus schritt die Krankheit äußerst langsam fort, während eine Impfung von Blattstiel oder Stengel zwar allmählich auch eine Erkrankung der Blätter hervorrief, aber nur selten die deutliche schwarze Aderung erzeugte. Stets schritt die Krankheit viel rascher zentrifugal. d. h. in der Richtung des Transpirationsstromes fort, als umgekehrt, was durchaus einleuchtend ist, wenn man bedenkt, daß die Hauptmasse der Bakterien

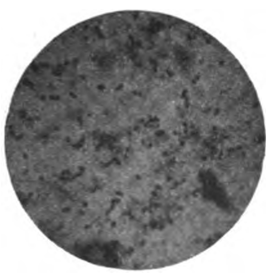


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Normalform aus älterer Agarkultur.
Fig. 2. Ketten aus sehr alter erschöpfter Kultur.

auf die Gefäßbahnen beschränkt ist. Es wäre jedoch nicht richtig, wenn man glauben würde, ein Eindringen der Krankheitserreger zwischen die Zellen des Mesophylls sei nicht möglich. In sehr vielen Fällen konnte auch ich in der Umgebung der Gefäßbahnen eine mehr oder weniger weitgehende Zerstörung der Gewebe wahrnehmen, am meisten allerdings in Stengel- und Stielstücken und nicht im Assimilationsgewebe der Blattspreite. Die Art und Weise, in welcher die Bakterien hier ihrer zerstörenden Arbeit obliegen, ist offenbar folgende: Nachdem durch ihr massenhaftes Auftreten und ihre energische Tätigkeit die verholzten Wände der Gefäße gelöst sind (sie scheiden jedenfalls ein Enzym aus), wandern sie zuächst durch die Intercellularen in das umgebende Gewebe ein (Fig. 4). Hier muß nach kurzer Zeit die Mittellamelle der Zellen, die ja in ihrer chemischen Zusammensetzung von der Cellulosemembran verschieden ist, gelöst werden. Die nunmehr aus ihrem Verbande gelösten einzelnen Zellen sind dem Tode geweiht, kollabieren und dienen samt ihren Inhaltsstoffen, die herausdiffundieren, den Bakterien zur Nahrung. Eine anfängliche Zerstörung oder Durchbohrung der Cellulosemembran konnte ich dagegen in keinem Falle erkennen. In einzelnen Präparaten sind allerdings auch größere Lücken im Parenchym wahrnehmbar, die keine kollabierten Zellhäute mehr enthalten; doch geschieht die

Zerstörung derselben sicher erst nach langer Zeit und nicht als Einleitung der Angriffe auf das lebende Gewebe. Auch Smith erwähnt übrigens, daß die Cellulose durch den Organismus nur wenig zerstört werde.



Fig. 3.

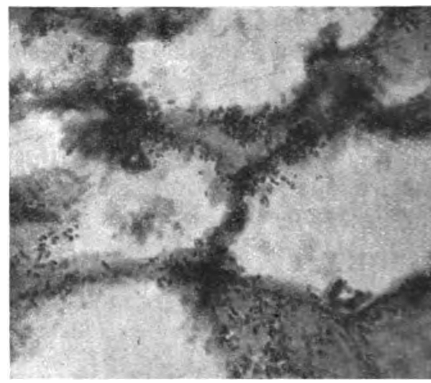


Fig. 4.

Fig. 3. Kurze Stäbchenform aus frischer, flüssiger Kultur.

Fig. 4. Zellen und Intercellularen aus dem Mesophyll mit Bakterien.

Um die Art der Ausbreitung der Krankheit zu zeigen, sei hier eine der Infektionsserien angeführt:

Blätter junger Pflanzen wurden am 17. Februar an verschiedenen Stellen durch Infektion einer Stichwunde geimpft. Am 3. März war der Befund folgender:

1) Vom unteren Teil des Hauptnerven aus hatte sich die Krankheit in diesem selbst bis über die Mitte des Blattes verbreitet. In der oberen Hälfte desselben war ein Gelbwerden der Spreite und Schwarzwerden der feineren Nerven auf ca. 1 qcm sichtbar.

2) Von der Mitte der Primärnerven aus war deutliche Erkrankung der ganzen vorderen Blatthälfte eingetreten, während abwärts erst die Blattrippe schwärzlich zu werden begann.

3) Impfung im vorderen Ende des Hauptnerven hatte ein mehr Fauligwerden des vorderen Viertels der Spreite mit undeutlich schwarzer Aderung und ein Schwarzwerden der Blattzähne der ganzen vorderen Hälfte zur Folge.

4) Um die Impfstelle in einem Sekundärnerven war nur eine ganz kleine Partie erkrankt, die erst am 19. März bis zum Primärnerven sich ausgedehnt hatte.

5) Die Infektion eines Blattzahns hatte Schwarzwerden fast sämtlicher Blattzähne zur Folge. An einigen Stellen hatte sich auch bereits ein gelber Hof mit schwarzer Aderung ausgebildet.

6) Ein Impfstich in die Blattspreite selber führte nicht zum Ziel, da die Wunde zu rasch austrocknete.

Am 10. März waren die im unteren und mittleren Teil des Primärnerven geimpften Blätter abgefallen, während in den übrigen die Krankheit erst mehr oder weniger sich ausgebreitet hatte.

Am merkwürdigsten erschien mir die Tatsache, daß bei Impfung eines Blattzahns die Infektion zunächst fast stets die übrigen Zähne ergreift und erst nachher langsam auf die inneren Blattpartieen übergeht. Auch in der Natur findet man häufig solche nur an den Rändern erkrankte Blätter. Bekanntlich besitzen nun die Kohlblätter Wasserspalten an den Zähnen, und es scheint, daß die Verbreitung der Krankheit hier durch den Austritt bakterienhaltiger Flüssigkeit und die kapillare Ausbreitung derselben an dem meist etwas umgebogenen Rande vor sich geht. Es gelingt ja auch die Infektion, wie Smith nachwies und ich bestätigen kann, ohne mechanische Verletzung, wenn man in einen ausgeschwitzten Tropfen Impfstoff bringt und dafür sorgt, daß der Tropfen von der Pflanze wieder aufgesaugt wird, oder wenn der Blattrand in eine Bakterienaufschwemmung gehängt wird.

Einen rascheren, aber undeutlicheren Verlauf nimmt die Krankheit, wenn der Blattstiel geimpft wird. Hier fällt das Blatt nach 14 Tagen bis 3 Wochen schon ab, meist aber ohne vorher die typischen Erscheinungen des Gelbwerdens und der schwarzen Aderung zu zeigen, oft vertrocknet es oder geht auch mehr in eine faulige Zersetzung über. Es scheint in der Tat, daß durch die massenhafte Bakterienentwickelung hier einfach die Wasserzufuhr zur Spreite unterbunden wird.

Bei Infektion des Stengels zeigt der Fortschritt der Erkrankung deutlich den Verlauf des Transspirationsstromes an. So fiel z. B. bei einer Pflanze, die unter dem 4. Blatt geimpft war, zunächst das 4. und 5. Blatt ab, dann aber nicht das 6. das auf der anderen Seite des Stengels stand, sondern das über der Impfstelle gelegene 7.

Doch wie gestaltet sich nun die Infektion in der Natur? Smith nimmt als Ueberträger hauptsächlich Schnecken, Raupen, Fliegen u. dergl., auch Düngemittel an und hat dies auch zum Teil durch Versuche als richtig erwiesen. Auch mir gelang die Infektion mit Schnecken. Doch scheinen auch kleinere Tiere hier mitwirken zu dürfen. So bemerkte ich, als einmal trotz der stets vorhandenen Bedeckung mit Glasglocken auf meinen Kulturen sich Blattläuse anzusiedeln begannen, daß die Infektionsversuche durch Stiche unmöglich weiter genau zu kontrollieren waren. Ich stellte daher neben eine kranke Pflanze, die mit Blattläusen behaftet war, ohne Bedeckung einige Kulturtöpfe und beobachtete, daß sich in der Tat die Krankheit durch die kleinen Parasiten rasch und sicher übertragen ließ. Auch einzelne Blattläuse, von kranken Stellen auf gesunde Pflanzen gebracht, riefen die Infektion hervor; die allerdings, sobald sie nicht an günstigen Stellen stattfand, nur sehr langsam weitere Fortschritte machte, aber schließlich doch zur Zerstörung des Blattes führte.

Es ließe sich schließlich auch die Frage aufwerfen, ob nicht die Infektion in den unterirdischen Teilen der Pflanze stattfinden kann, da die Mikroben von den abfallenden kranken Blättern ja genugsam in die Erde und durch das Wasser auch zu den Wurzeln gesunder Pflanzen gelangen müssen. Versuche bei denen Töpfe mit Bakterienaufschwemmung begossen wurden, hatten jedoch

keinen Erfolg, auch dann, wenn vorher die Wurzeln künstlich verletzt worden waren.

Von einem gewissen Einfluß auf die Erzeugung und den Fortschritt der Krankheit sind nun aber auch stets der Zustand der geimpften Pflanze sowie die physikalischen Verhältnisse ihrer Umgebung. Zwar sind alle Altersstadien des Kohls einer Infektion mit Pseudomonas zugänglich, doch führt naturgemäß bei kleinen Exemplaren, insbesondere bei Keimlingen, dieselbe rascher und sicherer zur vollständigen Zerstörung als bei mehr oder weniger ausgewachsenen Individuen. Die Kotyledonen zeigen schon nach ca. 8 Tagen die typischen Erscheinungen der Krankheit, die sich mit zunehmendem Wachstum der Pflanze rasch auch auf die ersten Blätter ausbreiten und meist nach kurzer Zeit entweder zur vollständigen Vernichtung oder doch zu Krüppelhaftigkeit führen. Meine meisten Impfversuche hatte ich mit ca. 3 Monate alten Exemplaren ausgeführt, und es zeigte sich dabei, daß nicht nur das Alter für Empfänglichkeit mitbestimmend ist, sondern auch die Jahreszeit und der mehr oder weniger kräftige Zustand der Pflanzen. Den raschesten und sichersten Erfolg darf man stets, wie dies auch Harding sagt, bei kräftigen, in vollem Wachstum begriffenen Exemplaren, besonders im Frühjahr erwarten, während bei dem langsamen Stoffumsatz, der im Winter, auch in warmen Laboratorien statthat, derselbe nur sehr langsam sich einstellt. Es soll damit jedoch nicht gesagt sein, daß die kräftigen Exemplare nun auch am leichtesten vollständig durch die Parasiten zerstört würden. Wenn ich auch der relativ kurzen Beobachtungszeit wegen keine definitiven Schlüsse in dieser Hinsicht zu ziehen wage, so scheint es mir doch, daß bei schwachen Exemplaren unter ungünstigen Wachstumsverhältnissen die vollständige Erschöpfung rascher eintritt, daß jedoch gleichzeitig die Krankheit weniger typisch ist, mehr einen akuten Verlauf nimmt. Es treten in solchen Fällen viel häufiger Mißbildungen der neu wachsenden Blätter, sowie teilweise faulige Zersetzungen auf, während die sonst charakteristischen Erscheinungen des gelben Grundes mit schwarzen Adern fehlen können. Bei kräftigen Exemplaren tritt zwar sehr bald das unzweideutige Zeichen der Schwarzfäule auf, doch bleibt die Krankheit chronisch, ergreift nur allmälich andere Blätter und führt nur selten zu einer vollständigen Vernichtung der Pflanze.

Die Feuchtigkeit der Umgebung wirkt, wie ich durch Versuche feststellte, etwas fördernd auf den Verlauf der Krankheit. Dem entspricht auch der Umstand, daß ich im Jahre 1903 bedeutend mehr angesteckte Pflanzen fand als 1902, was offenbar auf Rechnung des damals verflossenen besonders nassen Frühjahrs zu setzen ist.

Ist nun auch nach all dem Gesagten auch durch meine Versuche die Tatsache der Bakterienkrankheit unzweideutig nachgewiesen, so bleibt noch immer die Frage zu beantworten, wie soll man sich die Möglichkeit einer Infektion bei Pflanzen vorstellen.

Um diese Frage zu beantworten, untersuchte ich zunächst das Nährstoffbedürfnis von Pseudomonas, wobei es sich denn zeigte,

daß der Organismus als sehr anspruchslos zu bezeichnen ist. Während tierpathogene Bakterien entweder überhaupt nur auf den Säften ihrer Wirte zur Entwickelung gelangen, oder wenigstens als Stickstoffquelle Eiweiß oder Amidokörper verlangen und nur in wenigen Fällen sich mit Ammonsalzen (Choleravibrio) oder Salpeter (B. pyocyaneus) begnügen, gedeiht er bei ausschließlicher Darbietung von KNO_3 und Rohzucker noch vortrefflich und ist also im Sinne Fischers als Nitrobacterium zu bezeichnen. Das üppigste Wachstum erlangt auch er allerdings in Kohlblätterdekokt oder Pepton, doch sagen ihm auch noch die genannten minderwertigen Nährstoffe, die ja stets in den Gefäßbündeln der Pflanze zu finden sind, sehr gut zu. Ich verweise auf die beigefügte Tabelle.

No.	1 % N-Quelle	1 % C-Quelle	
1	Pepton	Traubenzucker	3
2	„	Pepton	3
3	Asparagin	Traubenzucker	3
4	„	Glycerin	1
5	Weins. Ammon	Traubenzucker	3
6	„	Glycerin	1
7	Chlorammon	Rohrzucker	2
8	„	Glycerin	1
9	Kalisalpeter	Rohrzucker	+2
10	„	Glycerin	0

3 bedeutet üppiges, 2 gutes, +2 sehr gutes, 1 schwaches Wachstum.

Als Grundlösung diente die von Fischer angegebene Lösung von Mineralsalzen.

In saurer Lösung gedieh der Organismus nicht; er verlangt ein schwach alkalisches Medium.

So ist es verständlich, daß auch in den aus den Wasserbahnen ausgepreßten Tropfen die Bakterien noch genügend Nährstoffe finden, um ihr Leben zu fristen und beim Eingesaugtwerden oder aktiven Eindringen in die Wasserporen ihr zerstörendes Werk in Angriff zu nehmen.

Ich verwendete längere Zeit zu dem Versuch, die Bakterien auf ihrem Vordringen in die Wasserporen schrittweise zu verfolgen, indem ich von Zeit zu Zeit Serienschnitte infizierter Pflanzen anfertigte. Leider ohne rechten Erfolg. Namentlich bei solchen ersten Angriffen der Krankheitserreger macht sich nämlich bei Betrachtung der Präparate der störende Einfluß der später noch zu besprechenden schleimigen Zersetzungsmasse unangenehm geltend, so daß die einzelnen Bakterien nur schwer zu erkennen sind und daher ein lückenloses Bild der Entwickelung der Krankheit nicht zu erhalten ist.

Um die Möglichkeit des Wachstums in diesen armen Nährmedien zu erweisen, sammelte ich ausgeschwitzte Tropfen, sterilisierte und trug eine Oese verdünnter Bakterienkultur ein. Unmittelbar darauf wurde mit derselben Oese ein Tröpfchen der erhaltenen Mischung mit einer bestimmten Menge Nähragar gemengt und eine Petrischale gegossen. Es zeigten sich darauf 2 Kolonieen von Pseudomonas. Nachdem die Tropfenkultur 10 Tage sich

selbst überlassen war, wurde mit der gleichen Oese von neuem eine Platte gegossen, auf der nun ca. 40 Kolonieen erschienen. Es ist somit die Möglichkeit der Uebertragung der Krankheit ohne äußere mechanische Eingriffe in die Pflanze auch auf diesem Wege erwiesen.

Ebenso ließ sich auch zeigen, daß die Blattläuse als Zwischenträger geeignet sind. Eine Blattlaus, die an einer kranken Stelle gesaugt hatte, wurde mit sterilisiertem Wasser geschüttelt und mit einer Probe desselben Platten gegossen. Die Kulturen von Pseudomonas, die darauf entstanden, waren zwar etwas hellgelber gefärbt, als ich sie sonst gewöhnt war, erwiesen sich aber bei Ueberimpfung auf gesunde Pflanzen noch als virulent.

Sehr weit würden nun allerdings die auf eine der angeführten Arten in die Pflanze eingedrungenen Bakterien nicht kommen können, wenn ihnen nicht die Fähigkeit zukäme, die verholzten Zellwände aufzulösen und so schrittweise in den Tracheiden und Gefäßen neue Gebiete zu erobern. Durch den Transpirationsstrom allein scheinen sie keine großen Strecken befördert werden zu können, wenigstens gelang es mir nicht, auch bei künstlichem Ueberdruck (durch Quecksilbereinpressung oder Saugwirkung) eine gefärbte Bakterienaufschwemmung in Kohlblattstengeln mehr als ca. 2 cm in die Höhe zu pressen; in entfernteren Partieen war zwar wohl noch Farbstoff nachzuweisen, aber keine Bakterien mehr.

Es ist offenbar ein von den Organismen ausgeschiedenes Enzym, das sie in den Stand setzt, die verholzte Membran anzugreifen. So kommt es, daß Paraffinschnitte durch kranke Gefäßbündel jenes eigenartige Bild zeigen, wie es namentlich in der letzten Publikation von Smith über diesen Gegenstand so auffallend ist (5). Zu Anfang sehen wir das ganze Lumen der Gefäße vollgestopft mit dicht feinkörnigem Inhalt. In späteren Stadien fließen die Grenzen der einzelnen Gefäße ineinander, ihre Wände sind bis auf die noch einzig mehr oder weniger erhaltenen Verdickungsringe verschwunden (Fig. 6), und schließlich bildet die ganze Stelle im Gewebe, die vorher vom Gefäßbündel erfüllt war, eine große Höhlung (Fig. 5). Namentlich Harding erwähnt nun aber ausdrücklich, daß es oft bei solchen Schnitten schwer hält, in dem körnigen Inhalt auch die einzelnen Bakterien sicher nachzuweisen, und naturgemäß ist dies daher für den Leser der nur die mikrophotographischen Reproduktionen vor Augen hat, noch viel schwerer. Auch mir fiel dieselbe Erscheinung auf; oft konnte ich bei deutlicher Schwarzfäule die einzelnen Bakterien gar nicht als solche erkennen, während ich dann plötzlich wieder Schnitte unter das Mikroskop bekam, in denen außer den Bakterien nur eine homogene Grundmasse die Höhlungen erfüllte. Ganz besonders macht sich der störende Einfluß der körnigen Zersetzungsmasse (denn mit einem Umwandlungsprodukt der Gefäßwand haben wir es offenbar zu tun) bei relativ jungen Krankheitsstadien geltend, und es scheint, daß er erst dann vollständig verschwindet, wenn alle Gefäßwände der Umgebung vollständig gelöst sind.

Es gelang mir nicht, die Substanz durch Alkalien oder Säuren in der Kälte zu lösen; auch Kupferammoniumoxyd, Eau de Javelle und Säuren in der Wärme ließen sie nicht entfernen ohne gleich-

zeitige Zerstörung der Bakterien und der umgebenden Gewebe; jedoch wurde sie bei genügend langer Einwirkung von angesäuertem Pepsin- und Pankreatinglycerin verdaut. Diastase wirkte nicht. Differentialfärbungen nach der Gramschen Methode führten nicht zum Ziele, da die Bakterien nach Beizung mit Jodkalium die Farbe ebenso rasch verlieren wie die Zersetzungsmasse und das umgebende Gewebe. Chlorzink löst die Substanz auf, stört aber die Betrachtung der Schnitte dadurch, daß gleichzeitig auch die Cellulose und die Mittellamelle vernichtet wird. Bei diesen chemischen Reaktionen mußte natürlich die sonst angewandte Methode des Aufklebens der Mikrotomschnitte mit Eiweiß verlassen und durch diejenige mit Collodium ersetzt werden.

Die Schnitte wurden in der Regel mit Karbolfuchsin gefärbt und mit Säurealkohol differenziert.

Durch Phloroglucin und Salzsäure wird die Substanz nicht gefärbt, während die bereits angegriffenen Gefäßteile zwar nicht mehr schön rot aber doch noch violett tingiert werden. Jod färbt

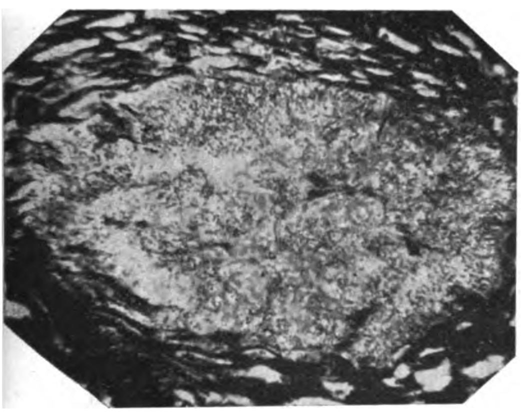


Fig. 5.

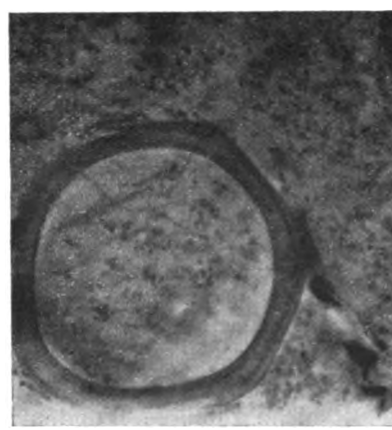


Fig. 6.

Fig. 5. Altes vollständig zersetztes Gefäßbündel mit Bakterien angefüllt. Aus gelber vertrockneter Blattpartie.

Fig. 6. Gefäßlumen und Lücken im Gefäßbündel mit Bakterien und Grundmasse angefüllt.

sie braungelb. Jod und konzentrierte Schwefelsäure erzeugt zuerst eine ganz schwache Blaufärbung, die aber rasch verschwindet und in eine braungelbe Nuance übergeht; die Auflösung findet nach der der Cellulose, aber vor derjenigen der verholzten Membran statt. Diese Reaktionen, sowie auch der Umstand, daß (was auch Harding erwähnt) an größeren, angeschnittenen Gefäßen die Inhaltsmasse als klebriges Tröpfchen erscheint, sprechen deutlich dafür, daß wir es hier mit einem gummiartigen Zersetzungsprodukt des Holzes zu tun haben, das wohl am ehesten als Bassorin zu bezeichnen wäre.

Den Vorgang der Auflösung vermochte ich nicht des näheren

zu verfolgen. Auch gelang es mir nicht, in Kohldekoktkulturen eine Zersetzung von Fließpapierstücken und Sägespänen deutlich wahrzunehmen.

Dagegen wurden Teile von Kohlgefäßbündeln in Salpeter-Zuckerkulturen nach ungefähr 3 Wochen maceriert. Da jedoch auch die Zersetzung der Holzsubstanz nur an der Peripherie deutlich wahrnehmbar war, darf man die holzlösende Fähigkeit der Bakterien jedenfalls nur als eine geringe bezeichnen. Nur in den lebenden Geweben, wo durch beständige Wasserzirkulation das Eindringen der Bakterien in alle Lumina ermöglicht wird, kann sie in größerem Maße wirksam werden.

Smith erwähnt, daß Pseudomonas campestris in den Nährpflanzen selbst meist ein sehr kurzes Stäbchen ist, oft fast micrococcusartig aussehe, während sie in den Kulturmedien eine mehr gestreckte Gestalt annehme. Ich kann diese Beobachtung nur bestätigen. Doch finden sich bisweilen auch in der Pflanze selber längere Stäbchen, namentlich in Partien, die schon längere Zeit erkrankt waren, und in den Intercellularen des Mesophylls (Fig. 4). Eine eigentliche Tendenz zur Bildung von Zoogloea konnte ich jedoch in meinen Kulturen nicht nachweisen, sehr oft aber eine beschränkte Kettenbildung (Fig. 2). In allen flüssigen Medien erschien der Organismus vorzugsweise in Paaren, in Peptonlösung häufig auch zu vieren. Auf ca. 2. Monate alten Agarkulturen trat er mehrmals in langen hin und her gebogenen Ketten auf (Fig. 3). Durch Ueberimpfen derselben auf frische Kulturmedien und in Pflanzen erhielt ich bald wieder die normalen Wuchsformen. Sporenbildung konnte auch ich nie beobachten, dagegen waren in sehr alten erschöpften Kulturen sogenannte Polkörperchen sichtbar.

Wir haben es hier also in der Tat mit einer Erscheinung zu tun, die unzweifelhaft als Bakteriose zu bezeichnen ist. So gut beim tierischen Leib das Eindringen der meisten Krankheitserreger stets eine, wenn auch noch so geringfügige Verletzung zu verlangen scheint, wird auch hier der gewöhnliche Weg derselben durch solche zufällige Wunden in das Innere der Pflanze führen.

Nur durch die Wasserspalten ist ihnen die Möglichkeit zu direktem Eindringen gegeben. Es besteht aber nach all dem Gesagten ein nicht zu verkennender Unterschied zwischen dieser Schwarzfäule des Kohls und den meisten tierischen Bakteriosen. Dort meist rasch verlaufende, in ihren Wirkungen unverkennbar zerstörende Seuchen, hier eine langsam schleichende, selten wirklich verheerend auftretende Erkrankung. Es ist daher kein Wunder, wenn trotz der weiten Verbreitung derselben unsere Landwirte eigentlich nichts von ihr wissen oder es wenigstens nicht für notwendig erachtet haben, eine besondere Bezeichnung für die gelbe Fleckung und schwarze Aderung der Kohlblätter zu erfinden.

Basel, Botan. Institut.

Literatur.

1) Smith, E. F., Pseudomonas campestris (Pammel) Erw. Smith, die Ursache der Braun- oder Schwarztrockenfäule des Kohls. (Zeitschr. f. Pfl.-Krankheiten. Bd. VIII. 1897. Heft 3. p. 284 f.)

2) Smith, E. F., Pseudomonas campestris (Pammel), the cause of brownrot in cruciferous plants. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 284, 408, 478.)
3) Harding, H. A., Die schwarze Fäulnis des Kohls und verwandter Pflanzen, eine in Europa verbreitete bakterielle Pflanzenkrankheit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 305.)
4) Smith, E. F., The cultural characters of Pseudomonas hyacinthi, Ps. campestris, Ps. Phascoli and Ps. Stewarti. Washington 1901.
5) —, The effect of blackrot on turnips. (Bull. Bureau of plant industry. No. 29. U. S. Dep. of agriculture. 1903.)

Ueber neue Sclerotinien.

Von **H. C. Schellenberg**, Zürich.

(Vorläufige Mitteilung.)

Auf Sorbus Aria Crantz fand ich vor 2 Jahren bei Wassen im Reußtal Blätter mit einer Chlamydosporenbildung, wie sie den Früchte mumifizierenden Sclerotinien eigen ist. Dieses Frühjahr gelang es mir, gekeimte Sclerotien mit Apothecien von den gleichen Bäumen zu bekommen. Die Sclerotinia-Art, die ich Sclerotinia Ariae nennen möchte, unterscheidet sich in ihren morphologischen Verhältnissen von der scheinbar am nächsten verwandten Sclerotinia Aucupariae Wor. scharf. Ihre Sklerotien erzeugen eine bedeutend größere Anzahl Becherfrüchte (bis 24 aus einer mumifizierten Frucht). Das Apothecium ist gestielt, klein, von schwach ockergelber Farbe und mißt meist 1—2 mm im Durchmesser. Die Asci sind keulenförmig, 65 μ lang, 6—8 μ breit. Die farblosen, länglichen, eiförmigen Ascosporen messen 10—11 μ auf 2,5—3,5 μ. Sporidien sind in der Kultur schwer zu erhalten. Die Chlamydosporen der Blätter sind kugelig und messen nur 8—10 μ. Diese neue Sclerotinia ist somit die kleinste der bis jetzt bekannten, Früchte mumifizierenden Formen.

Vor 2 Jahren habe ich mumifizierte Früchte von Sorbus Chamaemespilus Crantz in der Nähe des Ofenberghauses gefunden und dieses Jahr fand ich eine ähnliche Erscheinung an den Früchten von Mespilus germanica L. bei Poschiavo. Die zugehörigen Apothecien sind mir noch nicht bekannt geworden.

Auf der Gerste tritt an der Halmbasis und den unteren Blättern häufig eine Sclerotinia auf. Die befallenen Pflanzen bleiben klein und bilden nur verkümmerte Aehren aus. Auf 2-jähr. alten Halmteilen fand ich gekeimte Sklerotien mit Apothecien. Diese haben strohgelbe Farbe und besitzen einen Durchmesser von 1—$1^1/_2$ mm. Der Stiel wird ca. 2 mm lang und ist ohne Haare. Die Asci sind keulenförmig, 65 μ lang, auf 6—9 μ breit und enthalten je 8 ovale, an beiden Enden schwach zugespitzte, farblose Sporen von 5—7 μ Länge auf 4—6 μ Breite. An den jungen befallenen Pflanzen bildet sich eine weißliche Botrytis an Halmbasis und jungen Blättern, mit der sich der Pilz im Frühjahr stark vermehrt und oft größere Ausdehnung gewinnt. Ich nenne den Pilz Sclerotinia Hordei.

Auf Weizen tritt eine ganz ähnliche Krankheit auf, die wahrscheinlich aber durch einen von der vorgenannten Art verschiedenen Pilz verursacht wird. Das Sclerotium ist bedeutend größer als bei der Gerste.

Auf dem Nußbaum ist eine Krankheit häufig zu beobachten, die ein starkes vorzeitiges Abfallen der jungen, halb ausgewachsenen Früchte herbeiführt. Regelmäßig weisen diese abgefallenen Exemplare eine schwarzfaulige Zersetzung des Kernes auf. Es schreitet die Zersetzung von innen nach außen; die bereits angelegte harte Schale wird mürbe und später werden die erkrankten Exemplare außen schwarz glänzend. Es bilden sich auf der Schale kleine schwarze Sklerotien, die bei feuchtem Wetter zu Botrytisbildung schreiten. Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß mit der fauligen schwarzen Zersetzung die Ausbreitung des Pilzmycels der Sclerotinia parallel geht. Die Infektion der Baumnuß geschieht bald nach der Blüte. Die Pilzschläuche dringen durch den Narbenkanal in die junge Frucht ein und die Zerstörung geht von innen nach außen. Bei feuchtem Wetter scheint, daß auch eine spätere Infektion im halb ausgewachsenen Zustande der Nuß möglich ist und daß dann der Pilz durch Verletzungen der Oberhaut eindringt.

Diese Krankheit der Baumnuß, die in der Nord- und Ostschweiz stark verbreitet ist, wird durch eine Botrytis-bildende Sclerotinia hervorgerufen. Das Apothecium ist mir noch nicht bekannt geworden.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues, p. 675.

Brenner, W., Die Schwarzfäule des Kohls, p. 725.

Düggeli, Max, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Forts.), p. 695.

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. (Fin), p. 714.

Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis der Erblichkeit bei den einzelligen Organismen. — Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (Bacillus Berestnewi n. sp.), p. 641.

Leschtsch, Marie, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen, p. 649.

Nikolski, M., Ueber den Einfluß der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwickelung der Schimmelpilze. (Schluß), p. 656.

Schellenberg, H. C., Ueber neue Sclerotinien, p. 735.

Schorler, B., Beiträge zur Kenntnis der Eisenbakterien, p. 681.

Wurth, Th., Kulturversuche mit Puccinien vom Typus der Puccinia Galii (Pers.), p. 713.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XII. Band. Jena, den 6. September 1904. **No. 25.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Referate.

Guilliermond, A., Nouvelles recherches sur l'épiplasma des Ascomycètes. (Compt. rend. de l'Acad. des Sciences de Paris. 15 juin 1903.)

Verf. stellt sich besonders die Aufgabe, den Ursprung der metachromatischen Körperchen zu untersuchen. Er benutzt hierzu die Ascomyceten, deren Zellen infolge ihrer Dimensionen für diese Untersuchung bequemer sind als die des früher studierten Ascobulus marginatus.

Er findet metachromatische Körperchen in Aleuria cerea, A. olivea, A. vulgaris, Periza tuberosa, P. venosa, Pyronema confluens und einigen anderen. Bei allen diesen Arten verhalten sie sich wie Reservematerial.

Verf. untersucht besonders A. cerea und zeigt, daß die metachromatischen Körperchen in den Mutterzellen der Asci an ihren beiden Polen und häufig in der Mitte des Kernes entstehen; dieser letztere erleidet jedoch keine Aenderung in seiner Struktur und zeigt auch kein Merkmal, daß auf eine etwaige Beteiligung bei dei Bildung dieser Körper schließen läßt. Indessen ist es nicht unmöglich, daß er eine indirekte Rolle in dem Chemismus dieser Absonderung spielt.

Verf. ist im stande gewesen, die Kernteilung zu studieren, welche der Bildung der Sporen vorangeht. Sie vollzieht sich durch eine Karyokinese, die der von Harper beschriebenen analog ist.

J. Beauverie (Lyon).

Matouschek, Franz, Die Pilze des Reichenberger Bezirkes. (Heimatskunde des Reichenberger Bezirkes für Stadt und Land, herausgegeben von Anton Fr. Ressel.) 8°. Reichenberg in Böhmen. 1903. Lief. 1. p. 95—100.)

Eine floristische Studie, im Zusammenhange mit den anderen Sporophyten-Abteilungen im VII. Kapitel der 1. Lieferung veröffentlicht. Matouschek (Reichenberg).

Cocconi, G., Ricerche intorno ad una nuova mucorinea del genere Absidia. (Mem. Acad. Bologna. Ser. V. T. VIII. p. 85—90. 1 tab.)

Als Absidia scabra n. sp. beschreibt Verf. eine neue Mucorinee, welche auf Pferdeexkrementen aufgefunden wurde.

Das lockere Mycel des Pilzes besteht aus bogenförmig gekrümmten Hyphen, deren Zweige mit Rhizinen versehen sind. Die sporangientragenden Hyphen stehen zu 3—5 büschelartig beisammen und sind oft verzweigt, im Inhalte reich an Proteinkristallen. Die Sporangien, deren unterer Teil an der Sporenbildung nicht teilnimmt, sind ei- bis birnförmig. Die Sporen keimen sehr leicht in kurzer Zeit. Der heraustretende Keimschlauch bildet sich bald zu den erwähnten bogenförmigen Hyphen aus.

Sobald die Nahrung in dem Substrate abnimmt, findet der für die Mucoraceen charakteristische Kopulationsvorgang statt. Die Zygospore ist fast kugelig und erreicht einen Durchmesser von 78—86 μ. Unter günstigen Bedingungen keimt die Zygospore und bildet eine sporangienentwickelnde Hyphe. Die aus den Sporangien hervorgehenden Sporen sind kugelig, hyalin, $4^1/_2$—6 μ im Durchmesser, stachelig.

Mitunter kommt es vor, daß die Sexualhyphen nicht zusammentreten, sondern ihre Enden entwickeln sich zu Azygosporen, welche wie Zygosporen auskeimen. H. Sydow (Berlin).

Cocconi, G., Intorno ad una nuova specie di Chaetomium. (Mem. Acad. Bologna. Ser. V. T. VIII. p. 683—688. 1 tab.)

Auf morschem Holze fand Verf. eine neue Chaetomium-

Art, welche Ch. papillosum benannt wird. Die Sporen der Art sind eiförmig und besitzen an einem Ende eine farblose Papille. In der Nähe der Perithecien werden auf besonderen Basidien dünnwandige hyaline Konidien gebildet.

Bei der Keimung der Ascosporen entsteht ein verzweigtes, septiertes Mycel. Die Mycelzweige verstricken sich und bilden allmählich das Ascogon. Bei Kulturen in Nährlösungen gelangen kleine durchscheinende Knäuelchen hin und wieder zur Ausbildung, welche den Pycniden entsprechen. Die sehr kurzen Basidien tragen an der Spitze 2-zellige gefärbte Sporen vom Typus einer Diplodia.

Bei günstigen Bedingungen keimen die Pycnidiosporen und entsenden meistens nur eine Hyphe; seltener entsteht aus jeder Sporenhälfte je eine Hyphe. Die Hyphen verflechten sich und bilden das perithecienentwickelnde Mycel, während einzelne Zweige zu Konidienträgern werden. Aus den keimenden Konidienträgern gehen entweder neue Hyphen hervor, die zu Konidienträgern auswachsen, oder aber Mycelhyphen, welche später Perithecien entwickeln. Bleiben die Konidienkulturen sich selbst überlassen, so entstehen nach einigen Tagen hier und dort Chlamydosporen, welche sich zu Ueberwinterungsorganen ausbilden.

H. Sydow (Berlin).

Sydow, H. und **P.**, Nomenklatorische Bemerkungen zu einigen kürzlich neu beschriebenen Pilzarten. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 2. p. 176—188.)

Didymostilbe P. Henn. = Didymostilbe Bres. et Sacc.

Microdiplodia Allesch. = Microdiplodia F. Tassi 1902.

Eine Anzahl neu beschriebener Pilze wurde mit bereits anderweitig vergebenen Namen versehen, so daß eine Neubenennung derselben nötig ist:

Irpex depauperatus Mass. wird umgetauft in Irpex tasmanicus Syd., Boletus lacunosus Rostr. in Boletus Rostrupii Syd., Collybia olivacea Mass. in Collybia calabarensis Syd., Tremella inflata Pat. in Tremella Patouillardi Syd., Ustilago microspora Mass. in U. exigua Syd., Didymosphaeria Typhae Feltg. in D. Feltgeni Syd., Phyllachora dendritica P. Henn. in Ph. effigurata Syd., Phyllosticta Piperis P. Henn. in Ph. pipericola Syd., Phoma acaciicola Oud. in Ph. commutata Syd., Phoma Baptisiae Oud. in Ph. baptisiicola Syd., Cercospora sessilis Ell. et Ev. in C. reducta Syd., Stilbum albipes Mass. in Stilbella aggregata Syd.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Sydow, H. et **P.**, Neue und kritische Uredineen. I. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 4. p. 324—334.)

1) Uromyces Deeringiae Syd. n. sp. (in foliis vivis Deeringiae indicae in Java et Luzon).

2) Uromyces Microtidis Cke. (Uredoform wird beschrieben;

in foliis vivis Microtidis porrifoliae in N. S. Wales et Chatam Island).

3) ? Uromyces Pseudarthriae Cke. (Uredoform; in Pseudarthria Hookeri ex Togo, vielleicht ist die Cookesche Art überhaupt nur eine Uredoform).

4) Uredinopsis americana Syd. n. sp. (nahe verwandt mit Ured. Struthiopteridis Störm.; in foliis vivis Onocleae sensibilis in Massachusetts).

5) Puccinia aequatoriensis Syd. n. sp. (in foliis vivis Marsdeniae spec. prope Palmira).

6) Puccinia Cynoctoni Lév. (hierher gehört die von Spegazzini beschriebene Pucc. Cynoctoni Speg. von Blättern des Cynoctonum bulligerum in Argentinien).

7) Puccinia Calycerae Syd. 1902 (= P. Calycerae Speg., welch letztere später publiziert wurde).

8) Puccinia Franseriae Syd. n. sp. (in foliis vivis Franseriae ambrosioidis in Arizona; von Griffiths in West American fungi sub. No. 257 als Puccinia Tanaceti verteilt).

9) Puccinia Gayophyti (Vize) Peck 1882 (= P. Gayophyti Speg. auf Gnayophytum humile; neue Nährpflanze Gaioph. diffusum in Washington).

10) Puccinia sejuncta Syd. n. sp. (auf Blättern von Hieracium albiflorum in Nordamerika; erste Aecidienform auf Hieracium).

11) Puccinia sphaerospora Syd. et P. Henn. n. sp. (in foliis vivis Metastilmatis Schlechtendalii in St. Croix insula, am nächsten der Pucc. subcollapsa Ell. stehend).

12) Puccinia splendens Vize 1878 (= Pucc. notabilis Tracy et Earle 1895).

13) Puccinia Tassadiae Syd. (in foliis vivis Tassadiae comosae in Brasilia).

14) Phragmidium Ivesiae Syd. n. sp. (in foliis vivis Ivesiae unguiculatae in California).

15) Ravenelia macrocarpa Syd. n. spec. (in foliis vivis Cassiae bicapsularis in Brasilia).

16) Ravenelia papillifera Syd. n. sp. (in foliis vivis Cassiae Lindheimerianae in Texas).

17) Ravenelia Schweinfurthii Syd. n. sp. (in foliis vivis Entadae sudanicae in Africa centralis).

18) Ravenelia Usambarae Syd. n. sp. (in foliis vivis Cassiae goratensis in Usambara; nahestehend der Rav. Stuhlmanni P. Henn.).

19) Ravenelia aculeifera Berk. (die Nährpflanze ist nicht Megonenicum enneaphyllum, sondern Mezoneuron enneaphyllum).

20) Ravenelia verrucosa Cke. et Ell. (Nährpflanze nicht Lecania, sondern Leucaena).

21) Uredo Cassiae glaucae Syd. n. sp. (in foliis vivis Cassiae glaucae in Nova Guinea).

22) Uredo Cassiae-stipularis Syd. n. sp. (in foliis vivis Cassiae stipularis in Chile).

23) Uredo Socotrae Syd. n. sp. (in foliis vivis Cassiae Sophorae in Socotra).

24) Uredo nidulans Syd. (in foliis vivis Dalbergiae foliolosae in Bolivia).

25) Uredo Ophiogonis Syd. n. sp. (in foliis Ophiopogonis Jaburan in insula Liukiu).

26) Uredo Peckoltiae Syd. (in foliis vivis Peckoltiae pedalis in Goyaz).

27) Uredo Plucheae Syd. n. sp. (in foliis vivis Plucheae camphoratae in Florida Am.).

28) Aecidium Cardiospermi Cke. (ergänzende Beschreibung der Art von Zansibar, auf Cardiospermum microcarpum).

29) Aecidium Isoglossae Syd. n. sp. (in foliis vivis Isoglossae lacteae in Deutsch-Ostafrika).

30) Aecidium Clibadii Syd. (in foliis vivis Clibadii Donnell-Smithii et asperi).

31) Aecidium Aikeni Syd. n. sp. (in foliis vivis Thalictri purpurascentis prope Cincinnati; ist nicht Aecid. Thalictri-flavi, wie es unter No. 1397 in Sydow, Uredineen, ausgegeben wurde). — Diagnosen stets lateinisch gehalten.

Matouschek (Reichenberg).

Sydow, H. et **P.,** Diagnosen neuer Uredineen und Ustilagineen nebst Bemerkungen zu einigen bereits bekannten Arten. (Annales Mycologici. 1903. Vol. I. No. 1. p. 15—23.)

1) Uromyces Psophocarpi Syd. nov. spec. (in foliis vivis Psophocarpi longepedunculati in Chinchoxo, Afrika occidentalis; besitzt ein sogenanntes Pseudoaecidium wie Uromyces aberrans Dietel).

2) Uromyces Microchloae Syd. nov. sp. (in foliis Microchloae setaceae, Scriba Ghattas Africae centr.).

3) Uromyces Bouvardiae Syd. nov. sp. (in foliis vivis Bouvardiae leianthae in Guatemala).

4) Uromyces induratus Syd. nov. sp. (in foliis caulibusque vivis Diplipterae sp. in Morelia in Mexico).

5) Puccinia Acanthospermi Syd. nov. sp. (in foliis vivis Acanthospermi Xanthioides, Caracas Venezuelae).

6) Puccinia subdecora Syd. et Holw. nov. sp. (in foliis vivis Brickelliae grandiflorae; Georgestown in Colorado Americae) mit einem Bestimmungsschlüssel zu den anderen auf Brickellia schon beschriebenen Arten.

7) Puccinia Gerardiae Syd. (in foliis caulibusque Gerardiae tenuifoliae; Mount Carmel, Illinois Americae bor., verwandt mit Pucc. Seymeriae Burr.).

8) Puccinia Alyssii Syd. (in foliis vivis Alyssi halimifolii prope Porto Maurizio Italiae).

9) Puccinia Toumeyi Syd. 1902.

10) Puccinia pallens Syd. nov. nomen. = Pucc. pallida Mass. auf Orthosiphon.

11) Pucciniastrum Boehmeriae (Diet.) Syd. (in foliis vivis Boehmeriae bilobae, japonicae, spicatae in Japonia).

12) Peridermium Holwayi Syd. nov. sp. (in acubus vivis Pseudotsugae Douglasii, Glacier, Columbia britannica, mit P. balsameum Peck [auf Abies balsamea] am nächsten verwandt).

13) Aecidium Grindeliae Syd. in Hedwigia, 1901, No. 1. Dazu gehört Aecidium Grindeliae. Griff 1902.

14) Aecidium Carpochaetes Syd. nov. sp. (in foliis Carpochaetes Grahami, in Mexico).

15) Aecidium melanotes Syd. nov. sp. (in foliis vivis Tetrantherae amarae in monte Salak insulae Javae; gänzlich verschieden von Aecid. Litseae Pat.).

16) ? Aecidium Orchidearum Desm. Ein von Holway bei Glacier B. C. auf Habenaria gracilis gefundenes Aecidium wird vorläufig hierher gestellt.

17) Uredo Gaudichaudii Syd. nov. sp. (in foliis Blainvilleae rhomboideae in Rio de Janeiro).

18) Uredo Opheliae Syd. nov. sp. (in foliis caulibusque Swertiae angustifoliae in India orientali).

19) Uredo balaensis Syd. nov. sp. (in foliis vivis Blechi Brownei in Balao, prov. Guayas Aequatoriae).

20) Uredo Panacis Syd. (in foliis vivis Panacis pseudoginseng, Sikkim).

21) Uredo Anthephorae Syd. nov, sp. (in foliis Anthephorae elegantis in Cuba).

22) Uredo Acriuli Syd. (in foliis Acriuli madagascariensis, Madagascar).

23) Uredo Courtoisiae Syd. nov. sp. (in foliis Courtoisiae cyperoidis, India orientalis).

24) Ustilago tuberculiformis Syd. nov. sp. (in foliis Polygoni runcinati in prov. Huphe Sinarum).

25) Ustilago Mitchellii Syd. nov. sp. (in ovaniis Iseilematis Mitchellii in Australia).

Die ausführlichen Diagnosen sind lateinisch gegeben.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Voss, W., Ueber Schnallen und Fusionen bei den Uredineen. (Ber. der Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXI. 1903. p. 366. Mit 1 Taf.)

Verf. weist für eine Anzahl Uredineenspecies die Bildung von Fusionen nach, eine Erscheinung welche bisher erst einmal (von Büsgen) beobachtet wurde; außerdem konnte auch das Vorkommen von Schnallen konstatiert werden; letztere kommen dadurch zu stande, daß die die Fusion von zwei benachbarten Zellen eines Mycelfadens vermittelnde Hyphe in unmittelbarer Nähe der die Zellen trennenden Querwand entspringt und so nahe hinter

der Wand mit der zweiten Zelle fusioniert, daß die entstehende Masche verschwindend klein ist.

Endlich weist Verf. in den an der Fusionsstelle entstehenden Querwänden Plasmaverbindungen nach, wonach sich die Uredineen in dieser Hinsicht ebenso wie andere Pilze verhalten.

Neger (Eisenach).

Mayr, H., Ist der Schüttepilz (Lophodermium Pinastri) ein Parasit? (Forstwiss. Centralbl. 1903. Nov.-Heft.)

Vom Verf. im Grafrather forstlichen Versuchsgarten ad hoc angestellte Versuche beweisen: 1) die hauptsächlich durch den Wind besorgte Ausbreitung der Krankheit (Infektion) erfolgt nur während des Nadelwachstums der Kiefern, vom Mai bis August; 2) die Zunahme der Rötung während des Winters und insbesondere im Vorfrühling nach klaren Nächten zeigt keine Ausbreitung der Krankheit auf bisher gesunde Gebiete an, sondern ist nur eine Folge der Vertrocknung der im vorausgegangenen Sommer bereits erkrankten Pflanzen. Dieser Vertrocknungsprozeß hängt allerdings von Witterungsverhältnissen und zwar nicht von Frost und tiefer Bodentemperatur, sondern von der Wärme und Trockenheit der Luft, von der Besonnung ab. Diesem letzteren Umstande sind die verschiedenen Frost- und Ueberdunstungstheorieen bezüglich der Schütte zuzuschreiben. Diese Theorieen sind irrig, es gibt weder eine Frost- noch eine Ueberdunstungsschütte, sondern nur eine Pilzschütte.

Von hohem Interesse ist weiterhin die Beobachtung, daß der an den alljährlich absterbenden und abfallenden Nadeln gesunder Kiefern saprophytisch lebende Lophodermium-Pilz die Schüttekrankheit nicht verursacht, daß dagegen das an den Schüttepflanzen lebende Lophodermium sehr infektiös ist und die typische Schüttekrankheit wiederum hervorruft. Für die Praxis ergibt sich hieraus, daß die Vernichtung von durch Schütte getöteten Pflanzen durch Feuer oder Untergraben nicht vernachlässigt werden darf. Aufgabe genauer wissenschaftlicher Untersuchung ist es andererseits, festzustellen, ob die beiden, biologisch sich so verschieden verhaltenden Lophodermium-Pilze identisch, Varietäten oder getrennte Arten sind.

Von weittragendster Bedeutung für alle schüttegefährdeten Oertlichkeiten ist endlich die zufällig sich darbietende Beobachtung, daß finnländisches und norwegisches Kiefernsaatgut widerstandsfähigere Pflanzen gegen den Schüttepilz liefert als Sämereien aus Livland und Westeuropa. Die aus dem skandinavischen Samen stammenden Pflanzen erwiesen sich als geradezu immun, wie es z. B. unter den exotischen Kiefern auch von Pinus Banksiana bekannt ist, während P. ponderosa und P. Thunbergii für den Schüttepilz ganz besonders empfänglich sind.

Beck (Tharandt).

Brevi note di patologia vegetale e botanica sistematica. (Abdruck aus Atti d. Istituto Botanico d. Pavia (2). Bd. IX. 1903—1904. p. 14.)

Unter dieser Rubrik sollen kurze Notizen über das aus der ganzen Welt im kgl. kryptogamische Laboratorium in Pavia einlaufende pflanzenpathologische Material veröffentlicht werden. Das 1. Heft bringt folgendes:

Pollacci, G., Sulla malattia dell'olivo detta „Brusca“:

Brizi (vergl. Ref. in diesem Centrbl. II. Abt. Bd. X.) hält für die Ursache der „Brusca“ (Brand) der Oelbaumblätter in Süd-Puglia den Pilz Stictis Panizzei de Not., und zwar auf Grund sorgfältiger Untersuchungen und Infektionsversuche. Nun findet Verf., daß neben diesem Pilz auch Coniothyrium Oleae n. sp. und Septoria Oleae n. sp. auf den befallenen Blättern vorkommen, und gibt die entsprechenden Diagnosen, ohne sich allerdings über die Beziehungen dieser Pilze zu der Krankheit aussprechen zu können.

Turconi, M., Sopra una nuova specie di Cylindrosporium parassita dell' Ilex furcata Lindl.:

Auf den Blättern von Ilex furcata im botanischen Garten zu Pavia erschienen im letzten Jahre weißlich-gelbliche Flecken, die von einem neuen, hier diagnostizierten Cylindrosporium, C. Pollacci, verursacht sind.

Cazzani, E., Sulla comparsa della Peronospora cubensis Beck. et Curt. in Italia:

Auf den Blättern der Melone bei Pavia und Rimini erschienen im letzten Jahre gelb-grünliche, später blaurötliche oder gar schwärzliche Flecken, welche von Peronospora cubensis verursacht waren. Diese unterscheidet sich von dem Mehltau der russischen Gurke, weil die sporangientragenden Hyphen nur paarweise oder zu drei aus den Spaltöffnungen hervorragen. Der Pilz kann am besten durch gewöhnliche Bordeauxbrühe unter Zusatz von 1:1000 Kaliumpermanganat getilgt werden.

Farneti, R., Intorno alla malattia del caffè sviluppatasi nelle piantagioni di Cuicatlan (Oaxaca, Mexiko):

Die von dieser Krankheit befallenen Kaffeeblätter zeigen zuerst nur eine Verbräunung, während später eirunde, braunrötliche Flecke erscheinen. Es handelt sich um Cercospora Herrerana n. sp. (Diagnose), welche nur das Schwammparenchym der Kaffeeblätter bewohnt und sich von C. coffeicola durch die Farbe der Blattflecke und der einzelnen Hyphen, sowie durch die Konidien unterscheidet, welche bei C. coffeicola 2—3, bei C. Herrerana 5 und mehr Querwände besitzen.

Nohmura, H., Intorno alla ruggine del rengesò (Astragalus sinicus) e a due nuovi micromiceti patogeni del gelso:

Der in Japan als Gründünger ausgedehnt angewandte Astragalus sinicus wird von einer Tuberculina Nohmuriana Sacc. n. sp. (Diagnose) angegriffen. Als neue Parasiten des Maulbeerbaumes werden Coryneum Mori n. sp. (Diagnose), welches junge Zweige befällt und sämtliche oberhalb des Angriffpunktes stehende Sprosse zum Absterben bringt, und Phoma niphonia

n. sp. (Diagnose) beschrieben. Im letzten Falle erscheint die Rinde der jungen Zweige gelb gefärbt und stirbt bald ab.

Pantanelli (Modena).

Stift, A., Ueber die im Jahre 1903 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. (Oesterreich-ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. 1904. p. 52.)

I. Die Zuckerrübe. A. Tierische Feinde.

Als allgemein beobachtete Schädiger traten auf: Drahtwürmer, Rüsselkäfer, Aaskäfer, Erdflöhe, Engerlinge, das Moosknopfkäferchen, Tausendfüßer und Erdraupen. Selten waren die Maden der Gartenhaarmücke, dagegen ungemein häufig diejenigen der Runkelfliege, die tatsächlich eine Kalamität in ganz Oesterreich und Ungarn bildeten. Zum Vernichten der Maden und Einsammeln der Puppen wurden Schulkinder herangezogen und damit sehr schöne Resultate erzielt. Die von verschiedener Seite ausgesprochene Vermutung, daß die Runkelfliege mit dem Samen verschleppt wird, ist ganz unbegründet und nach der Lebensweise und Lebenstätigkeit der Tiere auch unmöglich. Der nebelige Schildkäfer ist in einigen Feldern neben den Maden der Runkelfliege aufgetreten. Der größte Schaden wurde unstreitig durch die schwarze Blattlaus verursacht, welcher Schädling nicht nur auf 1-jährigen Rüben, sondern in ungewohnter Weise auch auf Samenrüben aufgetreten ist. In Niederösterreich wurden stellenweise kaum 10 Proz. unversehrte Rüben gefunden, und auch in Böhmen und Mähren wurde sehr geklagt; in Westungarn wurde auf einzelnen Feldern der vierte Teil der Rüben befallen. Das im Juli eingetretene kalte und sehr nasse Wetter hat glücklicherweise der Tätigkeit der Blattläuse Einhalt getan, so daß sich die Rüben noch rechtzeitig erholen konnten. Immerhin blieb der Schaden doch ein sehr fühlbarer, nachdem zum Teil in Westungarn die geernteten Rüben in Qualität und Quantität manches zu wünschen übrig ließen. Zur Bekämpfung hat sich in Westungarn ein rechtzeitiges Abschneiden der Blätter als bestes Schutzmittel bewährt, während das Bespritzen nur bei Samenrüben eine Wirkung zeigte. Es muß betont werden, daß das Bespritzen der Rübenblätter und -Pflanzen nicht 1mal, sondern wiederholt vorgenommen werden muß, nachdem man sonst des Schädlings nicht mehr Herr wird. Sehr gute Erfolge hat ein Bespritzen mit einer 2-proz. Tabakextraktlösung gebracht, wobei es aber notwendig ist, daß durch eine geeignete Zerstäubungsmaschine die Pflanzen durch die Bespritzungsflüssigkeit in einen förmlichen Dunst eingehüllt sein müssen, so daß die Pflanzen und damit auch die Blattläuse von allen Seiten den Wirkungen des Agens ausgesetzt sind. Diesbezüglich hat sich die sogenannte „Austriaspritze“ von der Firma Rott in Prag ausgezeichnet bewährt. Zur

Bekämpfung der Blattläuse auf Samenrüben — allerdings bei geringem Befall — empfiehlt sich auch das Abschneiden der von ihnen besetzten Triebe, die in einen alten Sack geworfen und dann verbrannt werden. Die Rübennematoden haben nur sehr selten mehr oder weniger geschadet. In einem bestimmten Falle wurde versucht, ein verseuchtes Feld durch monatelanges Unterwassersetzen, unter Zusatz von Aetzkalk, von den Nematoden zu befreien, doch ohne Erfolg. Die auf die Rüben folgende Gerste blieb merkwürdigerweise, trotzdem das Feld noch ganz mit Nematoden verseucht war, gänzlich verschont, was um so mehr erstaunlich ist, nachdem die Gerste neben dem Hafer unter allen Getreidepflanzen von den Rübennematoden am liebsten als Nährpflanze benutzt wird.

B. Krankheiten der Zuckerrübe.

Infolge der ungünstigen Witterungsverhältnisse war Wurzelbrand ziemlich häufig, doch verlief die Krankheit im allgemeinen ziemlich gutartig. Die Fälle, daß der Wurzelbrand tatsächlich vom Boden aus seine Ursache haben kann, da Pilze oder tierischer Fraß dabei keine Rolle gespielt haben, sind zu wiederholten Malen beobachtet worden. Herz- und Trockenfäule, Rübenschorf, der Wurzeltöter, die Bakteriose oder Wurzelschwanzfäule, der Wurzelkropf, die Blattbräune und die Gelblaubigkeit sind verhältnismäßig selten aufgetreten und bieten keinen Anlaß zu besonderen Bemerkungen. Die abnorm kalte Witterung des Frühjahres war die Ursache des Auftretens von Schoßrüben, und zwar in einem Umfange, wie er schon lange nicht beobachtet worden ist. An dem Auftreten dieser Erscheinung nahmen vielerlei Faktoren Anteil, von welchen manche noch vollkommen unbekannt sind. Zu den unbekannt gebliebenen Ursachen zählt eine 491 g schwere Rübe, die bei der Ernte gefunden wurde und sich durch das vollständige Fehlen eines Blattansatzes auszeichnete. Der Wurzelkörper besaß eine rissig-borkige, ganz dunkelbraun gefärbte Oberfläche und auch der sogenannte Kopf war in derselben Weise verwachsen. Daß die Rübe eine Blattkrone besessen haben muß, ist selbstverständlich, und rätselhaft ist, zu welcher Zeit und durch welche Ursache die Blätter verloren gegangen sind. Nach der Art der Verwachsung muß der Blattteil schon frühzeitig verloren gegangen sein, und ist es dabei wieder merkwürdig, daß die Rübe bei der Ernte ziemlich frisch war und obiges ganz normales Erntegewicht besaß.

II. Andere landwirtschaftliche Kulturpflanzen.

Auf Hafer hat sich die Rübennematode nicht unhäufig gezeigt, und zwar manchmal in einer Weise, daß ihr ganze Reihen zum Opfer gefallen sind. In einem Falle hat man die Nematoden durch unzweckmäßige Fruchtfolge (Rüben, Weizen, Gerste, Hafer) förmlich groß gezogen. Weitere Beobachtungen beziehen sich auf

Gallmückenmaden auf Klee, auf die schwarze Kirschblattwespe auf böhmischen Kirschblättern, Erdflöhe auf Kohlarten, und auf die Blattbräune der Gerste. Autoreferat.

Danysz, J. et **Wize, K.,** Les entomophytes du charançon des betteraves à sucre. (Cleonus punctiventris). (Ann. de l'inst. Pasteur. T. XVII. p. 421.)

Im südlichen Rußland, namentlich in den Regierungsbezirken Charkoff, Kieff und Podolien richtet ein zu den Curculioniden gehörender Käfer auf den Zuckerrübenfeldern einen Schaden an, der sich jährlich nach Millionen von Rubeln berechnet. Das Insekt, Cleonus punctiventris, ist bisher außer in Rußland nur in Mähren und Ungarn als Schädling aufgetreten. Zur Bekämpfung der die jungen Blätter benagenden Käfer hat man nicht ohne Erfolg Insektizide verwendet. An eine wirksame Eindämmung des Schadens durch solche Mittel ist indessen nicht zu denken, weil die im Boden lebenden Entwickelungsstadien, Larve und Puppe, ihrer Einwirkung entzogen sind. Hier müssen natürliche Hilfsfaktoren herangezogen werden und als solche fallen in erster Linie in Betracht die für Insekten pathogenen Pilze. Bemühungen, solche Pilze in den Dienst der Pflanzenkulturen zu ziehen, sind nicht neu, doch bisher, wie Verff. im historischen Teile ihrer Abhandlung ausführen, nicht mit durchschlagendem Erfolg verlaufen. Nicht das geringste Hemmnis bildeten die meist viel zu hohen Herstellungskosten der Pilzkulturen.

Verff. haben ihre Versuche im Jahre 1900 begonnen und durch umfangreiche Vorstudien zum vorneherein auf eine sichere Grundlage gestellt.

Bezüglich der Lebensweise des Schädlings wurde ermittelt, daß der Entwickelungscyklus in ungefähr einem Jahr abgelaufen ist. Dabei werden 10 Monate in der Erde verbracht und zwar die Zeit vom Mai bis September als Ei, bezw. Larve und Puppe, die Zeit vom September bis im folgenden Frühjahre als ausgebildetes Insekt. Weitere 2 bis 3 Monate des Frühlings verbringt das Insekt an der Oberfläche der Erde, bezw. an den oberidischen Teilen der Pflanze. Die Eier werden zu dieser Zeit in der Zahl von mindestens 40 pro Weibchen in die Erde gelegt. Der Käfer hat eine ausgesprochene Vorliebe für Zuckerrübenblätter und von denjenigen Feldern, auf denen aus Gründen des Fruchtwechsels zufällig keine Zuckerrüben gebaut werden, finden Massenwanderungen nach den Rübenfeldern statt. Bei dieser Gelegeheit werden dann auch in um die letzteren gezogenen Gräben die Tierchen zentnerweise eingesammelt.

Um den unterirdisch lebenden Stadien mittels künstlich vermehrter Kulturen pathogener Pilze beizukommen, war die Kenntnis jener Umstände, unter welchen Epidemieen spontan entstehen, besonders wichtig. Verff. haben aus diesem Grunde, bevor sie an die Ausführung der eigentlichen Versuche gingen, hunderte von Feldern untersucht, indem sie nach eingetretener Eierablage bis im September zu verschiedenen Zeiten in Erdproben bestimmten Vo-

lums die Zahl der gesunden, wie auch einer Pilzinfektion zum Opfer gefallenen Larven, Puppen und Käfer ermittelten. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die insektenvernichtende Tätigkeit der Pilze auf verschiedenen Feldern in sehr verschiedenem Grade zu Tage tritt. Während in gewissen Fällen von den ursprünglich gelegten Eiern nur einige Prozente ihre Entwickelung bis zum ausgebildeten Insekt durchliefen, waren in anderen Fällen die Pilzinfektionen so spärlich, daß sie praktisch kaum in Frage kamen. Zwischen diesen Extremen fanden sich alle möglichen Uebergänge. Was nun die Fälle betrifft, in welchen von wirklichen Epidemieen gesprochen werden konnte, so zwangen verschiedene Beobachtungen und Gründe zu der Annahme, daß die Massenerkrankungen der Larven u. s. w. nicht darauf beruhen, daß infizierte, erkrankte Individuen die Krankheit auf gesunde übertragen, sondern darauf, daß die Erde des betreffenden Feldes so reich an Sporen der in Betracht fallenden Pilze war, daß im Laufe der Sommermonate eine beträchtliche Zahl der aus den Eiern hervorgegangenen Individuen der Gelegenheit zur Infektion nicht entgehen konnte. Mit dieser Erkenntnis war ein Fingerzeig von außerordentlich wichtiger Art für die später vorzunehmenden Infektionsversuche gewonnen. Besondere Untersuchungen, die darauf abzielten, einen Zusammenhang des geringeren oder größeren Gehaltes der Erdproben an wirksamen Pilzsporen mit den chemischen und physikalischen Bodeneigenschaften herauszufinden, blieben ohne Erfolg. Hingegen zeigte sich in unzweideutiger Weise ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Verpilzung und der Zeit, seit welcher der betreffende Boden zur Rübenkultur benutzt worden war und zwar fand sich ein Boden im allgemeinen um so besser, vollständiger mit den zur Abwehr des Schadens notwendigen insektentötenden Pilzen ausgerüstet, je länger die Zeit, seit welcher er in regelmäßiger Fruchtfolge, meist alle 4—6 Jahre, Zuckerrüben getragen hatte. Die Uebereinstimmung der genannten Momente ging so weit, daß bei geordnetem Betrieb meist aus den Wirtschaftsbüchern der Grad der Verpilzung und dementsprechend der Grad des Käferschadens vorauszusagen war.

Als die Larven, Puppen oder Käfer (von Cleonus punctiventris) infizierende Pilze haben Verff. 8 Arten gefunden, von denen 4 schon bekannt waren, nämlich Oospora destructrix Delacroix, Sorosporella uvella Giard, Isaria farinosa und Sporotrichum globuliferum. Als neu kommen hinzu 2 Arten von Massospora, sodann ein Ascomycet, als Stilbella pseudomortierella bezeichnet und ein Verticillium, V. Oxana. Unter den 8 genannten spielen Isaria, Sporotrichum und Verticillium kaum eine praktische Rolle, weil sie nur den ausgebildeten Käfer infizieren, ein Fall, der an und für sich schon selten ist. Die anderen 5 Arten waren bei den Befunden wie folgt verteilt: Von 100 an Pilzinfektion zu Grunde gegangenen Raupen oder Puppen waren 60—70 Proz. durch Ospora, 30—38 Proz. durch Sorosporella und kaum 2 Proz. durch die beiden Masso-

spora und Stilbella zusammen angesteckt gewesen. Praktisch kämen somit nur Oospora und Sorosporella in Betracht.

Das Bild des befallenen Insektes ist je nach dem Infektionserreger ein verschiedenes. Bei Oospora destructrix kommt es infolge Auskeimens der Konidien an der Oberfläche und Durchwachsens von Hyphen in das Innere bei reichlicher Verzweigung der letzteren zur Entstehung eines dichten Filzes, einer Art Sclerotium. Bei geeigneter Temperatur und Feuchtigkeit treten von diesem aus wiederum Hyphen nach außen, so daß diese mumifizierte Larve in einen dichtem Pelz eingehüllt erscheint. In einem noch späteren Stadium verwandeln sich die inneren wie die äußeren Pilzfäden in „Sporen", das ganze wird sehr zerbrechlich und zerfällt bei der geringsten Erschütterung in Staub. Die durch Sorosporella zerstörte Raupe oder Puppe zeigt sich als ein mit feinen gelben und roten Kügelchen angefüllter Sack. Diese Kügelchen bestehen aus Anhäufungen von „Sporen"; von Hyphen ist keine Spur zu finden. Indessen kann man auf Kartoffeln und Agar unter geeigneten Bedingungen aus einzelnen Sporen ein Mycel austreiben sehen. Bemerkenswerterweise kann durch dieses ebenso wenig wie durch die Sporen selber die Krankheit experimentell auf Cleonus übertragen werden. Nichtsdestoweniger spricht die relativ große Zahl der unter natürlichen Verhältnissen von Sorosporella befallenen Schädlinge für die große Bedeutung dieses Pilzes und Verff. halten es sogar für möglich, daß derselbe im Kampfe gegen Cleonus nach und nach die Rolle der Oospora einnehmen, bezw. die letztere zurückdrängen wird. Für diese Ansicht spricht u. a., daß Metchnikoff, welche in den Jahren 1880–83 dieselben Gebiete durchforschte, auf 1660 Fälle von Oosporose nur 1 Fall von Sorosporellose feststellen konnte, während jetzt das Verhältnis wie 3:1 ist.

Versuche über Anwendung von Reinkulturen in der Praxis sind vorläufig nur mit Oospora destructrix ausgeführt worden. Um Sporenmaterial in großer Menge zu bekommen, wurde eine große Anzahl von Kartoffetstücken, die samt dem sie enthaltenden Gefäß im Autoklaven sterilisiert worden waren, durch Zerstäuben von Sporen in dem Gefäße geimpft und, nach eingetretenem Wachstum des Pilzes, schichtweise unter Zwischenlagerung von humusreicher, sterilisierter Erde in Holzkisten verpackt, wo die Entwickelung des Pilzes sich weiter vollzog und nach einigen Monaten ein sehr sporenreiches Aussaatmaterial lieferte, dessen Herstellungskosten pro Kilogramm etwa 2 frcs. betrugen.

Als Versuchsfeld diente ein Acker, der erst zum zweitenmal Zuckerrüben trug. Die Pilzkultur kam auf verschiedenen Parzellen in steigenden Mengen zur Anwendung, nämlich 1, 2, 3, 5 und 10 Kilogramm pro Hektar. Die Aussaat erfolgte gleichzeitig mit der Aussaat der Rübensamen in dieselbe Furche. Der Erfolg muß als recht zufriedenstellend bezeichnet werden. In der nicht behandelten Parzelle betrug die Zahl der spontanen Infektionen nur 2 Proz., während in den behandelten Parzellen die Zahl der nachweisbaren

Infektionen ziemlich regelmäßig entsprechend den verwendeten Quantitäten des Impfstoffes zunahm. Stellenweise betrug das Verhältnis der infizierten zu den ursprünglich vorhandenen Individuen sogar 50 Proz.

Verff. glauben, daß noch bessere Ergebnisse erzielt worden wären, wenn der Impfstoff nicht nur auf die Samenreihen lokalisiert, sondern auf die ganze Fläche gleichmäßig verteilt worden wäre. Ein neuer Versuch, wobei die Hälfte eines 47 ha großen Feldes mit dem Pilzmaterial in der Menge von 10 Kilogramm pro ha infiziert worden ist, wurde in diesem Sinne eingeleitet.

Verff. betonen am Schlusse, daß ihr Verfahren auch dann schon als sehr profitabel bezeichnet werden muß, wenn auch nur eine Infektionsziffer von 30 Proz. erreicht wird. Es handelt sich aber nicht nur um den einmaligen Abtötungserfolg von so und so viel Schädlingen, sondern ebensosehr um eine Anreicherung des Bodens an insektentötenden Pilzen in einem Grade, der auf natürlichem Wege voraussichtlich erst nach einer 5 bis 6-maligen Wiederkehr des Zuckerrübenanbaues, d. h. nach dem landesüblichen Turnus erst in 25—30 Jahren zu erreichen wäre. Burri (Zürich).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sechsundzwanzigster **Jahresbericht** der Schweizerischen Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt in Zürich. II. Teil. C. Pflanzenschutz. Berichterstatter **A. Volkart.** (Landw. Jahrbuch der Schweiz. Jahrg. XVIII. 1904. Heft 2. p. 94—97.)

Von dem von reicher Arbeit zeugenden Jahresbericht der obgenannten Anstalt soll an dieser Stelle einzig der Bericht über die phytopathologische Tätigkeit einer kurzen Besprechung unterzogen werden. Es gelangten im Berichtsjahre 75 Anfragen über Pflanzenschutz zur Beantwortung. Besonderes Interesse verdient die Mitteilung über die Schädlichkeit des Kolbenpilzes (Epichloë typhina (Pers.) Tul.) für das Vieh, worüber der Verf. seinerzeit in der der Schweiz. landw. Zeitschrift besonders berichtet hat. Sodann werden Versuche über die Wirksamkeit verschiedener Beizmittel zur Entbrandung des Getreidesaatgutes erwähnt. Interessant ist ferner die Beobachtung, daß Futterpflanzen aus amerikanischem Saatgute den Pilzkrankheiten stärker ausgesetzt waren als solche europäischen Ursprungs. Es betrifft dies speziell Peronospora trifoliorum de By. und Erysiphe Martii Lév. auf amerikanischem Rotklee, Puccinia coronata Corda auf amerikanischem Wiesenschwingel, sowie Pseudopeziza Trifolii Fuck. auf amerikanischer Luzerne, die alle mehr oder weniger stark von den

bezüglichen Krankheiten litten; währenddem die analogen Arten europäischer Herkunft nicht oder nur schwach von den erwähnten Krankheiten heimgesucht wurden.

Auf Rotklee wurde die bisher nur aus Italien und Deutschland beobachtete, durch Macrosporium sarcinaeforme Cav. hervorgerufene Fleckenkrankheit, auch für die Schweiz festgestellt. Auf Luzerne wurde Urophlyctis Alfalfae (Lgh.) Magn. angetroffen. Eine neue Blattfleckenkrankheit auf Lolium italicum und Lol. perenne wird vom Verf. unter dem Namen Ovularia Lolii Volk. nov. spec. beschrieben und abgebildet. Ebenso gibt der Verf. eine Beschreibung und Abbildung einer durch Staganospora Trifolii Fautr. hervorgerufenen Blattfleckenkrankheit des Weißklees. Jacky (Bern).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Abel, Rudolf, Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten, enthaltend die wichtigsten technischen Detailvorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. Aufl. 8. VI, 114 p. 8°. Würzburg (Stuber) 1904. 2 M.

Ball, M. V., Essentials of bacteriology. 4 edit. Illustr. London (Kimpton) 1904. 8°. 4,60 M.

Bericht über die dritte Jahresversammlung der Freien Vereinigung Deutscher Nahrungsmittelchemiker zu Stuttgart. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 1—127.)

Bodin, E., Biologie générale des bactéries. Paris (Masson et Co.) 1904. 2,50 M.

Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. Jg. I. 1903. 150 p. (enth. u. a.: **Aderhold,** Der heutige Stand unserer Kenntnisse über die Wirkung u. Verwertuug d. Bordeauxbrühe als Pflanzenschutzmittel. — **Schulze,** Einige Beobachtungen über die Einwirkung d. Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen. — **Muth,** Ueber die Schwankungen der Keimkraftprüfungen der Samen und ihre Ursachen. — **Voigt,** Einiges üb. d. heutigen Stand d. Methoden u. Normen in der Samenprüfung. — **Lindner,** Ueber die Mikroorganismen im Gärungsgewerbe. — **Meissner,** Kenntnis d. abnormen Gärung d. Moscato d'Asti spumante.)

Justs Botanischer Jahresbericht, hrsg. v. F. Fedde. Jg. XXX. Abt. II. 1903. Heft 3. Leipzig (Bornträger) 1904. (Pflanzenkrankheiten von Paul Sorauer, p. 332—430.)

Miethe, V., Traité pratique de recherches bactériologiques. Paris (Maloine) 1904. 8°. 1,50 M.

Prior, Die Bedeutung der gärungs-physiologischen Forschung für die Praxis. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. Juni 1904. p. 1—6.) (Sep. aus: Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Wien 1904.)

Tjaden, Hygienisch-bakteriologische Untersuchungsstellen in den Städten. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 13. p. 609—622. 3 Fig.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Adami, J. G. and **Chopin, J. A.**, A simple method of isolating from water forms which agglutinate with typhoid serum. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904. p. 469—474.)

Besson, A., Technique microbiologique et sérothérapique. 3 édition. Paris (Baillière et fils) 1904. 340 Fig. 12,60 M.

Bonhoff, H., Eine Differentialfärbung von Typhusbacillen in Schnitten. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 3. p. 217—221.)

Bordet, Jules, Une méthode de culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 5. p. 332—336.)

Cornwall, J. W., Notes on the cultivation of Streptothrix madurae. (Indian med. Gaz. Vol. XXXIX. 1904. N. 6. p. 208—209.)

Culmann, P., Monoculares, bildaufrichtendes Prismenmikroskop. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1904. Heft 4. p. 416—420. 1 Fig.)

Cybulski, G., Selbsttätige Sterilisierflaschen-Verschlüsse. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVIII. 1904. N. 23. p. 532—533. 1 Fig.)

v. Czadek, O., Extraktionsapparat mit Quecksilberverschluß. (Ztschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 5. p. 443—444. 1 Fig.)

Davis, D. J., A method of microscopic observation by means of lateral illumination. (Trans. of the Chicago pathol. soc. Vol. VI. 1904. N. 4. p. 90—99. 1 Fig.)

Ewert, Eine chemisch-physiologische Methode 0,00000051 mg Kupfersulfat in einer Verdünnung von 1 : 30 000 000 nachzuweisen und die Bedeutung derselben für die Pflanzenphysiologie und Pflanzenpathologie. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 133—136.)

Eine Geschirrspülmaschine. (Tuberculosis. Vol. III. 1904. N. 5. p. 201—205. 6 Fig.)

Hagemann, C., Eine Vereinfachung des Drigalski-Nährboden. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 13. p. 623—624.)

Hamilton, D. J., Preliminary note on the cultivation of anaërobes. (British med. Journ. 1904. N. 2270. p. 11—12.)

Hinterberger, A., Färbungen agglutinierter Typhusbacillen mit Silbernitrat. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 3. p. 457—461. 1 Taf.)

Jalowetz, Eduard, Zur Stickstoffbestimmung. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. 1904. p. 14. (Sep. aus: Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Mai 1904.)

Küster, Ernst, Entomologisches Arbeitsmikroskop von Brüder Ortner u. Co. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1904. Heft 4. p. 429—430. 1 Fig.)

Leishman, W. B., A method of producing chromatin staining in sections. (Journ. of hyg. Vol. IV. 1904. N. 3. p. 434—436.)

Lindner, P., Eine einfache, leicht ausführbare Methode zur Orientierung über den Eiweißgehalt der Gerste mit Hilfe der Pappenheimschen Triacidlösung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 397—398.)

Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 262—267. 5 Taf.)

Mayer, P., Notiz über Hämateïn und Hämalaun. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1904. Heft 4. p. 409—411.)

Pilz, Ferdinand, Ein neuer Bürettenverschluß. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 5. p. 441—442. 2 Fig.)

Rickards, Burt Ransom, A siomple method of cultivating anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 557—559. 2 Fig.)

Rosam, Kundrát, Beitrag zur Agarbereitung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 464.)

Rosenblatt, Stephanie, Vergleichende Untersuchungen über die verschiedenen Methoden zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 14. p. 670—673.)

Ruata, Guido Q., Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des Bacillus von Eberth vom Colibacillus. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 576—584.)

Saul, Ueber Reinkulturen von Protozoen. (Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. Jg. 1904. Heft 1/3. p. 374—376.)

Schwarz, C., Prüfung eines „Gnom"-Milcherhitzers für Handbetrieb. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVIII. 1904. N. 27. p. 633—635. 2 Fig.)

Seyffert, H., Luftfilter. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 28. p. 431—432.)

Thesing, E., Eine einfache Methode der Sporenfärbung. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 3. p. 254—273.)

Wichmann, Heinrich, Breyersches Ziegelmehlfilter, Modell 1903. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 27. p. 334—338.)

Zikes, Heinrich, Die Ueberprüfung von in Wasser löslichen Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen und eine neue Methode hierzu. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. p. 14—17. 1 Fig. (Sep. aus: Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Mai 1904.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Baar, R., Beitrag zur Kenntnis der Lebensweise des Myceliums von Ustilago violacea Pers. (Sitz.-Ber. Dtsch. naturw. med. Ver. Lotos Prag. Bd. XXIII. 1904. p. 279—285.)

Bail, Ein Käfer vernichtende Epizootie und Betrachtungen über die Epizootien der Insekten im allgemeinen. (Festschr. zur Feier des 70. Geburtstages des Herrn Paul Ascherson. Berlin (Bornträger) 1904. p. 209—215.

Bandwurm- und Trichinen-Merkblatt. Bearb. im K. Gesundheitsamte. Berlin (Springer) 1904. 4 p. m. 5 Fig. 5 Pf.

Beitzke, H., Ueber die fusiformen Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. N. 1/2. p. 1—15.)

Bertarelli, E., Le recenti scoperte intorno ai tripanosomi. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XV. 1904. N. 11. p. 361—372. 6 Fig.)

Bitter, Georg, Zur Soredienbildung. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 4. p. 274—280.)

Bonhoff, H., Ueber die Identität des Loefflerschen Mäusetyphusbacillus mit dem Paratyphusbacillus des Typus B. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 3. p. 222—253.)

Brieger, L. und **Mayer, Martin**, Zur Gewinnung spezifischer Substanzen aus Typhusbacillen. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXX. 1904. N. 27. p. 980—982.)

Bubák, Fr., Infektionsversuche mit einigen Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 411—426.)

Burri, R., Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 192—204.)

—, Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmentaler Käserei. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 371—378.)

Carini, A., Die pathogenen Trypanosomen des Menschen und der Tiere. (Korresp.-Bl. f. d. Schweizer Aerzte. Jg. XXXIV. 1904. N. 12. p. 392—396.)

Catterina, G., Beitrag zum Studium der thermophilen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 353—355. 1 Taf.)

Ceni, Carlo, Le proprietà tossiche dell' Aspergillus fumigatus in rapporto colle stagioni dell' anno. (Rivista Speriment. di freniatr. Vol. XXX. 1904. p. 85—95.)

Cohn, Erich, Ein Beitrag zum Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 3. p. 369—379.)

Constantineanu, J. C., Sur deux nouvelles espèces d'Urédinées. (Ann. Mycol. Vol. II. 1904. N. 3. p. 250—253. 1 Fig.)

Connstein, W., Ueber fermentative Fettspaltung. (Ergebnisse d. Physiol. Jg. III. Abt. I. Biochemie. 1904. p. 194—232.)

Dietel, P., Betrachtungen über die Verteilung der Uredineen auf ihren Nährpflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 218—234.)

Drost, A. W., Pleurococcus vulgaris Menegh als endophytisch levende wier. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. X. 1904. Afl. 3. p. 71—72. 1 Taf.)

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 235—249. 1 Taf.)

—, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. [Suite.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 426—439. 1 Taf.)

Eriksson, J., Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze. 1. Puccinia glu-

marum (Schum.) Erikss. et Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze. (Kgl. Svenska Vet. Akad. Handl. 37. 1904. p. 1—19. 3 Taf.)

Eysell, Adolf, Ueber Fang, Aufbewahrung und Versand von Stechmücken. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VIII. 1904. N. 7. p. 300—315. 15 Fig.)

Federley, H., Die Kopulation der Konidien bei Ustilago tragopogi pratensis Pers. (Finsk. Vet. Soc. Förh. 46. 1904. 23 p.)

Fischer, Hugo, Ueber Symbiose von Azotobakter mit Oscillarien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 267—268.)

Fischoeder, F., Beschreibung dreier Paramphistomiden-Arten aus Säugetieren. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XX. Heft 5. p. 453—470. 2 Taf. u. 3 Fig.)

Freriks, B. en **Broers, C. W.,** Een Taenia cucumerina bij een kind. (Weekblad van het Nederl. Tijdschr. voor geneesk. Deel 2. 1904. N. 1. p. 33—34.)

Prillieux, Sur la déhiscence des périthèces de Rosellinia necatrix Berlese. (Bull. soc. mycol. France. T. XX. 1904. p. 34—38. 2 Taf.)

Galli-Valerio, Bruno, Études bacteriologiques. Corynebacterium vaccinae. — Bacterium diphtheriae avium. — Bacterium candidus. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 465—471. 6 Fig.)

Galzin, Du parasitisme des champignons basidiomycètes épixyles. [Suite.] (Bull. Assoc. Vosg. Hist. Nat. 1904. p. 54—58.)

Gerhardt, D., Ueber Darmfäulnis. (Ergebnisse d. Physiol. Jg. III. Abt. I. Biochemie. 1904. p. 107—154.)

Hafner, B., Einige Beiträge zur Kenntnis des „Invertins" der Hefe. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLII. 1904. Heft 1/2. p. 1—34. 1 Taf.)

Hall, Höhere tierische Parasiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. N. 5/6. p. 145—156.)

Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 177—191.)

—, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 355—371.)

Henneberg, W., Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen. [Schluß.] (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 22. p. 228; N. 23. p. 239.)

—, Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 25. p. 347—349; N. 26.)

—, Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 374—376; N. 25. p. 347—349.)

—, Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 400—402.)

—, Studien über das Verhalten einiger Kulturheferassen bei verschiedenen Temperaturen. Ein Beitrag zur Enzymtätigkeit, zur Lebensdauer, Haltbarkeit und zum Absterben der Hefen. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 29. p. 447—451; No. 30. p. 457—460.)

—, Lebensdauer einiger Kulturheferassen (Frohberg, Saaz, Rasse II und Rasse XII) im feuchten Zustande bei niedrigen Wärmegraden und Einfluß verschiedener Organismen auf diese Hefen. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. XXIX. p. 298—299.)

Hennings, P., Fungi amazonici 2. a. d. Enesto Ule collecti. (Hedwigia. Bd. XLIII. Heft 4. p. 242—273. 1 Taf. u. 15 Fig.)

—, Fungi amazonici III. a. d. Ernesto Ule collecti. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 5. p. 351—352. 1 Taf. u. 46 Fig.)

van Hest, J. J., Beitrag zur Kenntnis der Oberhefe. Giebt es eine periodische Ausübung der hauptsächlichsten Lebensfunktionen der obergärigen Hefezellen? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 30. p. 540—542.)

Hinterberger, A., Geißeln bei einer 5 Monate alten Proteuskultur und einer $10^1/_2$ Monate alten Kultur von Micrococcus agilis. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 480—484. 1 Taf.)

Hiltner, L., Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten

Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosenknöllchenbakterien (Nitragin). Stuttgart (Ulmer) 1904. 48 p. m. Fig. 8°. 1 M.

Höflich, C., Die Hundewürmer und ihr Einfluß auf die Gesundheit unserer Haustiere. (Illustr. landw. Ztg. Jg. XXIV. 1904. N. 51. p. 585.)

v. Höhnel, Zur Kenntnis einiger Fadenpilze. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 4. p. 295—299.)

—, Mykologische Fragmente. 70. Was ist Achroomyces? (Ann. Mykol. Vol. II. 1904. N. 3. p. 270—277.)

Hooton, A., Notes on the destruction of mosquitoes in Bijapur. (Indian med. Gaz. Vol. XXXIX. 1904. N. 6. p. 205—207.)

Howe, Freeland, Notes on the Bacillus coli. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 484—487.)

Jahn, E., Myxomyceten aus Amazonas. Gesammelt von E. Ule. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 4. p. 300—304. 2 Fig.)

Issajew, W., Ueber die Hefeoxydase. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLII. 1904. Heft 1/2. p. 102—116; 132—140. 1 Fig.)

van Iterson jr., G., Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 4/5. p. 106—115.)

Jundell, J., Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen im Dünndarm des Menschen. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXXIII. 1904. Heft 4. p. 965—976.)

Kiesel, K., Neues über Fermente und Antifermente. (Jahresh. d. Ver. f. vaterländ. Naturl. in Württemberg. Jg. LX. p. LXXIX—XCV.)

Klotz, Oskar, A hitherto undescribed epizootic among rabbits and rats, caused by a flagellate micrococcus. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904. p. 493—506.)

Kossowicz, Alexander, Beobachtungen über die Farbstoffbildung einiger Bakterien in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen. [1. Mitt.] (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 4. p. 404—406.)

Lander, Clarence H., The anatomy of Hemiurus crenatus (Rud.) Lühe, an appendiculata Trematode. (Bull. of the comp. zool. of Harvard Coll. Vol. XLV. 1904. N. 1. 27 p. 4 Taf.)

Laubert, R., Zur Morphologie einer neuen Cytospora. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 407—411. 1 Taf.)

Laveran, A., Sur des culicides recueillis dans les régions du Tchad et du Chari par M. le Dr. Decorse. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 23. p. 1069—1070.)

—, Sur des culicides du Haut-Tonkin. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 23. p. 1070—1072.)

Laveran, A. et **Mesnil, F.**, Trypanosomes et trypanosomiasis. 1 Taf. u. 64 Fig. Paris (Masson et Cie.) 1904. 417 p. 8°. 10 M.

Léger, Louis, Sur la sporulation du Triactinomyxon. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 19. p. 844—846. 4 Fig.)

—, Considérations sur le genre Triactinomyxon et les Actinomyxides. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 19. p. 846—848.)

Lesne, Pierre, Nouvelles observations sur les moeurs de la mouche de l'Asperge. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 22. p. 1006—1008.)

Levin, Ernst, Bakteriologische Darmuntersuchungen. (Skandinav. Arch. f. Physiol. Bd. XVI. 1904. Heft 3/4. p. 249—262.)

Lindau, G., Aspergillus (Sterigmatocystis) strychni nos. spec. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 5. p. 306—307.)

Lindner, P., Zur Einführung von Preßhefen vom sparrigen Typus. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 22. p. 225—226. 6 Fig.)

v. Linstow, Neue Helminthen aus Westafrika. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 3. p. 379—383. 1 Taf.)

Loew, Oskar, Bemerkungen über den Bacillus methylicus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 176.)

Mac Callum, W. G., Echinostomum garzettae n. sp. (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XX. 1904. Heft 5. p. 541—548. 1 Fig.)

Martini, Erich, Insekten als Krankheitsüberträger. (Mod. ärztl. Bibl. 1904. Heft 11. 1904. 39 p. 8°. 1 M.

—, Protozoen im Blute der Tropenkolonisten und ihrer Haustiere. (Verh. Ges. Dtschr. Naturf. u. Aerzte. Cassel 1903. Teil II. Hälfte 2. Med. Abt. p. 501-502.)

Massee, G., On the origin of parasitism in Fungi. (Phil. Trans. R. Soc. London. Vol. CXCVII. 1904. Ser. B. p. 7—24.)

Mazé, P., Sur la zymase et la fermentation alcoolique. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 24. p. 1514—1517.)

Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 161—176. 3 Taf.)

—, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 337—352.)

Nicolle, Charles, Sur une hémogrégarine de Lacerta ocellata. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 20. p. 912—914. 8 Fig.)

Palmans, L., Étude d'un bacille trouvé dans des oeufs. (Bull. de l'agricult. Bruxelles. T. XX. 1904. Livr. 3. p. 447—452.)

Piatkowski, S., Ueber eine neue Eigenschaft der Tuberkel- und anderer säurefesten Bacillen. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXX. 1904. N. 24. p. 878.)

Philcoche, Ch., Étude sur la loi d'action de la maltase. 2. Nouvelle preuve de la constance du ferment. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 22. p. 1003—1005.)

Pollak, Alfred, Die stärkeabbauenden Enzyme im Grünmalze. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 23. p. 317—319.)

—, Triebkraftbestimmung der Hefe und Einwirkung von Backhilfsmitteln auf die Teiggärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXII. 1904. N. 30. p. 373—374.)

Prowazek, S., Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 1. p. 1—41.)

—, Entamoeba buccalis n. sp. [Vorl. Mitt.] (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. XXI. 1904. Heft 1. p. 41—44.)

Rahtjen, Th., Versuche über die Virulenzschwankungen von Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. N. 1/2. p. 15—16.)

von Ráts, Stefan, Dibothriocephalus latis im Hunde. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 3. p. 384—387.)

Rosenberger, F., Ueber homogen wachsende, säurefeste Bacillen. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. klin. Med. Bd. LIII. 1904. [Festschr. f. Franz Riegel] p. 153—158.)

Rosenthal, Georges, Cultures des anaérobies gazogènes en tubes cachetés: le tube cacheté étranglé. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 20. p. 921—922.)

Salmon, Ernest S., On Erysiphe Graminis DC., and its adaptive parasitism within the genus Bromus. (Ann. Mycol. Vol. II. 1904. N. 3. p. 255—267. 12 Taf. u. 8 Fig.)

Schiff, Ruggero, Bakteriologische Untersuchung über Bacillus Oleae (Arc.) [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 217—218.)

Schilling, F. F., Die pathogene Bedeutung der Schimmelpilze. (Arch. f. Verdauungs-Krankh. Bd. X. 1904. Heft 3. p. 294—305. 1 Fig.)

Segin, Adalbert, Zur Einwirkung von Bakterien auf Zuckerarten. [2. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 397—400.)

Sydow, H. et **P.**, Puccinia sonchina Syd. n. sp. (Rev. agron. 1. 1903. p. 330—331.)

Tassi, Fl., Zoocecidi della flora Senese 2. (Bull. laborat. Ort. bot. Siena. 6. 1904. p. 142—148.)

Telesnin, L., Der Gaswechsel abgetöteter Hefe (Zymin) auf verschiedenen Substraten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 205—216. 3 Fig.)

Tischler, G., Kurzer Bericht über die von Eriksson und mir ausgeführten Untersuchungen über das vegetative Leben des Gelbrostes (Puccinia glumarum Erikss. et Henn.). (Biol. Centralbl. Bd. XXIV. 1904. N. 13. p. 417—423.)

Trail, J. W. H., Gall upon Sagina ciliata Tr. (Ann. Scott. nat. hist. 1904. p. 130.)

Voglino, P., Sul parassitismo e lo sviluppo dello Sclerotium cepivorum nell' Allium sativum. (Staz. sperim. agr. Ital. XXXVI. p. 89—106. 2 Taf,)

Warschawsky, J., Die Atmung und Gärung der verschiedenen Arten abgetöteter Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 400—407.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 4. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 9 10. p. 294—304.)

Wohltmann, F., **Fischer, H.** und **Schneider, Ph.**, Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem (Poppelsdorfer) Versuchsfelde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 9/10. p. 304—309.)

Wolff, J., Untersuchungen über das Gerinnen der gelösten Stärke. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 28. p. 289—290.)

Zahlbruckner, A., Neue Flechten. (Ann. Mycol. Vol. II. 1904. N. 3. p. 267—270.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Beythien, A., Ueber die Verwendung der schwefligen Säure als Konservierungsmittel, insbesondere den jetzigen Stand der Beurteilung geschwefelten Dörrobstes. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 36—53.)

Kerp, W., Ueber das Verhalten der schwefligen Säure in Nahrungsmitteln. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 53—58.)

Schmidt, H., Ein Beitrag zur Frage der schwefligen Säure. (Konserven-Ztg. Jg. 1904. N. 24. p. 961—962.)

Fleisch.

Agerth, Ueber die Ausführung des Prof. Emmerichschen Fleischkonservierungsverfahrens. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. VIII. 1904. Heft 3/4. p. 302—303. 1 Fig.)

Fokker, A. P. en **Philipse, A. M. F. H.**, Een vleeschvergiftiging door B. enteritidis. (Weekblad van het Nederl. tijdschr. voor geneeskunde. Deel 2. 1904. N. 1. p. 4—22.)

Froidevaux, I., Recherche des fluorures alcalins dans les viandes et les produits de la charcuterie. (Journ. de pharm. et de chimie. Année XCV. Sér. 6. T. XX. 1904. N. 1. p. 11—12.)

Müller, M., Zum Reifungsprozeß des Fleisches. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 10. p. 337—339.)

Luft, Wasser, Boden.

Cambier, R., Contribution à l'étude des eaux alimentaires; méthode de recherche du bacille typhique; stérilisation par filtration sur lits oxydants insolubles. Thèse de Paris 1904. 8°.

Clauditz, H., Ein Beitrag zur quantitativen bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 14. p. 665—670.)

Emmerich, R., Ueber die Beurteilung des Wassers vom bakteriologischen Standpunkte. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 77—86. 1 Taf.)

Feistmantel, C., Trinkwasser und Infektionskrankheiten. Epidemiologie. Untersuchungsmethoden, Sterilisierungsverfahren. Leipzig (Thieme) 1904. VIII, 122 p. 2,80 M.

v. Jacksch, R. und **Rau, R.**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im fließenden Moldauwasser im Weichbilde und im Leitungswasser von Prag. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVI. 1904. N. 4. p. 584—592. 1 Plan.)

Jahresbericht der königl. Versuchs- und Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung für das Jahr vom 1. April 1903 bis 31. März 1904. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Folge 3. Bd. XXVIII. 1904. Heft 1. p. 165—172.)

König, J., Der gegenwärtige Stand der Beurteilung von Trink- und Abwasser nach der chemischen Analyse. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 64—77.)

Labit, H., L'eau potable et les maladies infectieuses. Paris (Masson et Co.) 1904. 8°. 2,50 M.

Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 448—463. 5 Taf.)

Marlatt, C. L., The new distillate spray in California. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 60—61. 1 Taf.)

Miquel, P. et **Mouchet, H.**, Nouvelle contribution à l'épuration bactérienne des eaux de source et de rivière au moyen des sables fins non submergés. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXIX. 1904. N. 3. p. 236—238.)

Schattenfroh, A., Neue Wasserreinigungsverfahren. (Schriften d. Ver. z. Verbreitg. naturw. Kenntnisse Wien. Bd. XLIV. 1904. p. 79—104.)

Milch, Molkerei.

Bergey, D. H., The occurrence of bacillus pseudodiphtherie in cow's milk. (Journ. of med. sc. Vol. XI. 1904. p. 445—450.)

Kroon, G. M., De controle der gepasteuriseerde en gekookte melk. (Landbowkundig tijdschr. 12. 1904.)

Macoir, Louis, L'industrie fromagère en France-Comté. (Bull. de l'agricult. Bruxelles. T. XX. 1904. Livr. 3. p. 377—441.)

McCleary, G. F., The infant's milk depot: its history and function. (Journ. of hyg. Vol. IV. 1904. N. 3. p. 329—368. 7 Taf.)

Prölss, Die Milchversorgung unserer Großstädte unter Anlehnung an die Hamburger Milchausstellung 1903. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXXVI 1904. Heft 3. p. 508—534.)

Rodella, Antonio, Ricerche sistematiche preliminari sulla flora anaerobica del latte. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 5. p. 217—228.)

Rogers, L. A., Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 388—396.)

van Slyke, L. L. und **Hart, E. B.**, Chemische Veränderungen in selbständig säuernder Milch bei Bereitung von Bauernkäsen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIV. N. 28. p. 325—326.)

Smith, Walter, G., Milk; human and bovine. (Dublin Journ. of med. sc. Ser. 3. 1904. N. 390. p. 401—411.)

Stoklasa, Julius, **Černý, F.**, **Jelinek, Johann**, **Šimáček, Eugen** und **Vitek, Eugen**, Ueber die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Kuh- und Frauenmilch. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 2. p. 165—182. 1 Fig.)

Swellengrebel, N., Ueber pasteurisierte Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 11/16. p. 440—448.)

Teichert, Kurt, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 30. p. 468—469.)

Untersuchungen über das Reifen des Cheddarkäses. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 23. p. 354—356.)

Winkler, W., Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage. Kritisches Referat. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 4/5. p. 97—105.)

—, Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 9/10. p. 273—289.)

Wein, Weinbereitung.

Bordas, F., La stérilisation des bouchons. (Moniteur vinicole. (Année XLIX. 1904. N. 44. p. 174.)

Böttner, Johannes, Die Obstweinbereitung. Anleitung zum Keltern des Apfelweines und der anderen Obst- und Beerenweine. Die Pflege des Weines auf dem Fasse und in der Flasche. Die alkoholfreien Weine. 7. Aufl. Frankfurt (Trowitzsch) 1904. 1,50 M.

Delle, Ed., L'acide sulfureux dans les vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 51. p. 202.)

—, Les vinaigres. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 53. p. 210.)

—, L'analyse des vinaigres. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 57. p. 226.)

Desmoulins, A. M., Les vins en bouteilles. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 51. p. 202.)

—, Les vins en bouteilles. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 52. p. 205—206.)

Faes, H., Le court-noué. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 11. p. 336—338.)

v. Gramatica, C., Einiges über „Teroldego" und seine chemische Zusammensetzung. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 5. p. 436—440.)

Gsell, Jos., Die Most-(Obstwein-)Bereitung auf kürzestem Wege. (Die dtsche Essigindustrie. Jg. VIII. 1904. N. 22. p. 173—174.)

Guénaux, G., Les cuves de vendange. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 46. p. 182.)

—, La fermentation des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 50. p. 198.)

—, La sterilisation des mouts. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 53. p. 210.)

Guiraud, D., Bouillies soufrées et sulfatées. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 56. p. 222.)

Malvezin, Frantz, Les vins atteints de tourne. (Moniteur vinicole. Année XLIX. N. 45. p. 178.)

—, Gouts de cuit des vins dans la concentration et la pasteurisation. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 57. p. 226.)

Meissner, R., Kenntnis der abnormen Gärung des Moscato d'Asti spumante. (Jahresber. d. Vereinigung d. Vertreter d. angewandt. Bot. Jg. I. 1903. Berlin. p. 96—150.)

Möslinger, Die Chemie im Dienste der Weinbehandlung und Weinbeurteilung. (Die Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 27. p. 319—324.)

P., Lactocolle als Weinklärmittel. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 257—258.)

Piot, R., Préparation des vins blancs doux. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 56. p. 222.)

Rosenstiehl, A., Ueber die Gegenwart von Lecithin im Weine. (Chemiker-Ztg. Jg. XXVIII. 1904. N. 56. p. 663—664.)

Rothenbach, Wodurch werden die Verluste bei der Essiggärung veranlaßt und nach Möglichkeit vermindert? (Die Dtsche Essigindustrie. Jg. VIII. 1904. N. 19. p. 149—150.)

Schindler, J., Einiges über die Beurteilung der Naturreinheit von Weinen auf Grund der chemischen Analyse. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 5. p. 407—435.)

Windisch, Karl, Anleitung zur Untersuchung von Most und Wein für Praktiker. Mit Einschluß der Süßweine, Schaumweine, Aepfel- und Birnweine. Wiesbaden (Windisch) 1904. 8°. XIV, 347 p. 141 Fig. 7,50 M.

Bier, Brauerei.

Apitzsch, Zur Frage der Hefespundung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 23. p. 328.)

Bau, Arminius, Ueber fremdländische Exportbiere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 404—406.)

C. B., Ueber hölzerne Podeste, Schlupfbretter und das Faßtürbrettl. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 409.)

Claussen, N. Hjelte, Eine Methode zur Anwendung von Hansens Reinzuchtsystem bei der Herstellung von englischen, gelagerten Biersorten. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 370—373.)

Claussen, Hjelte, Verwendung von Hansens System der Reinhefe bei Herstellung von englischen Lagerbieren. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jg. XLIV. 1904. N. 164. p. 1961—1962.)

Delbrück, M., Fortschritte im Brauereigewerbe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 28. p. 502—508.)

Foth, Georg, Der Nutzen der mechanischen Gärbottichkühlung. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVII. 1904. N. 28. p. 287—288.)

Ewald, Gustav, Bieranalysen. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. p. 17—19. [Sep. aus: Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Mai 1904.])

Henne, Georg, Zur Frage der Hefespundung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 427.)

Holzhäuser, R., Ueber Malz mit kürzerem Blattkeim und das daraus bereitete Bier. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 27. p. 403—404.)

Jalowetz, Ed., Ueber den Einfluß der Maischwassermenge auf die Zusammensetzung des Bieres. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. p. 11—14. [Sep. aus: Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Mai 1904.])

Keil, H., Die im Mai 1904 untersuchten Biere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 373—374.)

Kleinke, O., Ueber die Regulierbarkeit des Vergärungsgrades durch Anwendung des Springmaischverfahrens. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 23. p. 319—320; N. 24. p. 339—340.)

Lindner, P., Die Bedeutung der Feststellung des Infektionsquotienten gärender Flüssigkeiten unmittelbar nach der Probeentnahme. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. p. 368—369.)

Lintner, C. J., Ueber den Maischprozeß. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 27. p. 473—480.)

—, Ueber den Maischprozeß. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jg. XLIV. 1904. p. 1803—1806.)

Luff, G., Ueber Ursache und Verhütung der Infektion in der Würze- und Bierleitung. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. p. 484—487.)

Merz, G., Ueber Vergleichs-Probesude aus eiweißärmeren und eiweißreicheren Gerstenmalzen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 29. p. 443—446.)

Mohr, O., Kohlensäurebildung, Viskosität und Schaumhaltigkeit. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 363—368.)

Neumann, P., Wasserzuguß zu gärender Maische. (Ztschr. f. Spiritusindust. Jg. XXVII. 1904. N. 26. p. 268.)

Prior, Der Stickstoffgehalt in Gerste und Malz. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. Mai. p. 1—7. [Sep. aus: Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Mai 1904.])

—, Ueber neuere Maischverfahren. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. Juni 1904. p. 7—11. [Sep. aus: Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Wien 1904.])

Rüffer, Ernst, Hefespundung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 25. p. 359—360.)

Schneider, Hefespundung. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 25. p. 358—359.)

Schott, J., Ueber das Mehrmaischverfahren, dessen Abkürzung und den Kochprozeß. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jg. XLIV. 1904. N. 153. p. 1848—1850. 4 Fig.)

Vogel, Inwieweit können die manchmal bei einem neuen Sudwerk auftretenden geschmacklichen Veränderungen des Bieres aus Nebenumständen erklärt und vermieden werden? (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jg. XLIV. 1904. N. 152. p. 1829—1830.)

Wichmann, Heinrich, Keimproben und Keimapparate. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. Mai. p. 7—11. [Sep. aus: Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. 1904.)

—, Besprechung des neueren Gärverfahren auf dem Oesterreichischen Brauertage in Wien am 13. Mai 1904. (Mitt. d. Oesterr. Versuchsanst. u. Akad. f. Brauindustrie in Wien. Juni. p. 12—14. [Sep. aus: Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Wien 1904.])

—, Besprechung der neueren Gärverfahren. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 30. p. 455—456.)

Will, H. und **Braun, R.**, Vergleichende Untersuchung einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlener Desinfektionsmittel. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 30. p. 537—540.)

Wolff, J., Untersuchungen über das Gerinnen der gelösten Stärke. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 24. p. 335—337.)

Zehnter deutscher Brauertag, Frankfurt, 29. Juni. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 27. p. 340—342.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Dombrowsky, Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. 13. Einige Beiträge zur Kenntnis der Mehl-, Teig- und Brotsäuren. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 2. p. 97—117.)

Hilger, A., Zur Kenntnis der im rechtsdrehenden Koniferenhonig vorkommenden Dextrine. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1904. Heft 1. p. 110—127.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Czaplewski, E., Kurzes Lehrbuch der Desinfektion als Nachschlagebuch für Desinfektoren, Aerzte, Medizinal- und Verwaltungsbeamte unter Zugrundelegung der Einrichtungen der Desinfektionsanstalt der Stadt Köln zusammengestellt. Bonn (Hager) 1904. XII, 104 p. 8°. 2,50 M.

Falck, Richard, Darstellung und Anwendung konsistenter Spiritusseifen zur rationellen Reinigung und Desinfektion der Haut, besonders von anklebenden Schimmelpilzen. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXXIII. 1904. Heft 2. p. 405—437. 1 Fig.)

Greiff, Karl, Desinfektion von Fäkalien in Lazaretten und Kasernen bei Ausbruch von Epidemien. Diss. med. Berlin 1904. 8°.

Iunack, Max, Untersuchungen über die Außendesinfektion mittels mäßig gespannten strömenden Wasserdampfes mit besonderer Berücksichtigung der Desinfektion der Milchkannen. Diss. med. Gießen 1904. 8°.

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Zusammenf. Uebersicht.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. N. 3/4. p. 65—95. 26 Fig.)

Krohne, Die Bedeutung der Verseuchung unserer öffentlichen Gewässer und der hierdurch bewirkten Verbreitung des Typhus und Milzbrandes. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Folge 3. Bd. XXVIII. 1904. Heft 1. p. 107—130.)

Stöcker, Demonstration eines neuen Desinfektions- und Inhalationsapparates und die bisherigen Versuche mit demselben. (Verh. Ges. Dtscher Naturf. u. Aerzte. Cassel 1903. Teil II. Hälfte 2. Med. Abt. p. 490—493.)

Werner, O., Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 4. p. 305 - 363.)

Werner, Die Formaldesinfektion von Phthisikerwohnungen. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVII. 1904. N. 13. p. 408—413.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

A Flour Beetle (Tribolium confusum L.) (Journ. of the Board of agric. Vol. XI. 1904. N. 2. p. 109—110.)

Aphides or Plant-Lice. (Journ. of the Board of agric. Vol. XI. 1904. N. 2. p. 34—37.)

A. S., Die Kartoffelkrankheit. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 26. p. 629—630.)

Belle, J., Peronospora. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 25. p. 290—291.)

Black Scab of Potatoes (Oedomyces leproides Trabut). (Board of agric. and fisheries. Leaflet. N. 105. 4 p. 2 Fig.)

Blunno, M., Reconstruction of Phylloxera-infected Vineyards on Phylloxera-resistant Stocks. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 4. p. 364—382. 13 Fig.)

Björkenheim, C. G., Beiträge zur Kenntnis des Pilzes in den Wurzelanschwellungen von Alnus incana. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 129—133. 1 Taf.)

Booth, J. John, Duke of Atholl, his larch plantation and the larch disease. (Trans. R. Scot. arbor. soc. 17. 1904. Pt. 2.)

Brefeld, O., Neue Untersuchungen und Ergebnisse über die natürliche Infektion und Verbreitung der Brandkrankheiten des Getreides. (Nachr. Klub. d. Landwirte. Berlin 1903. p. 4224—4234.)

Bridwell, J. C., Additional observations on the tobacco stalk weevil. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 44—45.)

Briem, H., Tabakextrakt ein sicheres Mittel gegen Blattläuse. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 24. p. 186.)

—, Beobachtung beim Fangen der Drahtwürmer. (Oesterr.-Ungar. Ztschr. f. Zuckerind. u. Landw. Jg. XXXIII. 1904. Heft 3. p. 357—359.)

Briosi, G. e **Farneti, R.**, Intorno alla ruggine bianca dei limoni (Citrus limonum Risso). (1. Atti. istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 10. 1904. 60 p. 11 Taf.)

Britton, W. E., Insect notes from Connecticut. (U. St. Depart. of agricult. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 105—107.)

Brown, G., Diseases, insects and animals injurious to forest trees. (Trans. R. Scot. arbor. soc. 17. 1904. Pt. 2.)

Bubák, Fr., Neue Krankheit der Zuckerrübe in Böhmen. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 11. p. 171—173.)

Burgess, A. F., The use of arsenate of lead for controlling the codling moth. (U. St. Depart. of Agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 14 - 23.)

—, Notes on the treatment of nursery buds. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 34—40.)

Calkoen, H. J., Uitwassen aan boomen. (De Natuur. 24. 1904. p. 97—98.)

Carruthers, J. B., The canker fungus in rubber. (Trop. agric. Colombo. 23. 1903. N. 6.)

Cazeaux-Cazalet, Réceptivité et invasions de la vigne par le black-rot. (Rev. vitic. 21. 1904. p. 156—159.)

Cazzani, E., Sulla comparsa della Peronospora cubensis Berk. et Curt. in Italia. (Istit. Bot. Univ. Pavia. N. Ser. 9. 1904. p. 6—8.)

Chester, F. D., Treatment of certain plant diseases. (Bull. Delaware agr. exp. stat. 63. 1904. p. 29—32.)

Chittenden, F. H., The chestnut weevils, with notes on other nut-feedings species. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 24—39. M. Fig.)

—, The cowpea-pod weevil. (U. S. Depart. of agric. Div. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 39—43. M. Fig.)

—, The cherry fruit fly. (Phagoletis cingulata Loew). (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. 1904. N. 44. p. 70—75. M. Fig.)

Chuard, E. et **Dusserre, C.**, Sur les verdets employés dans la lutte contre le mildiou. (Cronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 9. p. 291—297.)

— —, Les bouillies cupriques soufrées pour le traitement simultané contre l'oidium et le mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 11. p. 329—332.)

— —, Les bouillies cupriques soufrées pour le traitement simultané contre l'oidium et le mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 11. p. 329—332.)

Cook, M. T., Galls and insects producing them. (Ohio Nat. 4. 1904. p. 115—139; appendix 1. p. 140—147.)

Corboz, F., Les insects nuisibles aux plantes utiles. [Suite.] (Lépidoptères. Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 11. p. 338—341.)

—, Les insectes nuisibles aux plantes utiles. [Suite.] (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. N. 9. p. 297—307; N. 10. p. 319—324. 10 Fig.)

Davis, A. R., A note on the collar rot of the orange. (Transvaal agr. Journ. 2. 1904. N. 6.)

Delacroix, G., Sur le parasitisme du Dothichiza populea Sacc. et Br. sur diverses espèces de peupliers. Bull. soc. mycol. France 19. 1903. p. 353—355.)

Der Wurzelschimmel der Reben und dessen Beseitigung. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jg. XIII. 1904. p. 26—28.)

Die Weinbauverhältnisse in der durch die Reblaus verseuchten Gebieten Steiermarks. [Schluß.] (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 258—259.)

Die Monilienkrankheit der Obstbäume. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 24. p. 585—586.)

Donon, D., Traitement simultané de l'oidium et du mildiou. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 21. p. 678—679.)

Eine Krankheit der Rosenblätter (Marsonia rosae Briosi et Cav.). Aus dem Französ. übers. v. V. Ducomet. (Wiener ill. Garten-Ztg. 1904. p. 29—33.)

Farneti, R., Le volatiche e l'atrofia dei frutti del fico. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. 8. 1904. p. 513—521.)

—, Intorno alla malattia del caffè sviluppatasi nelle piantagioni di Cuicatlan nel Messico. (Istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 9. 1904. p. 12—13.)

Felt, E. P., Remedies for the San Jose scale. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 52—56.)

Fletcher, James, Insects of the year in Canada. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 82—88.)

Freckmann, W., Entwickelung und Bekämpfung des Kleekrebses (Sclerotinia trifoliorum). (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 51. p. 452—453.)

Froggatt, Walter W., The Army Worm (Leucania unipuncta Haw.) in Australia. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 4. p. 327—331. 2 Fig.)

—, The nut grass coccid. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 5. p. 407—410. 1 Taf.)

—, Some fern and orchid pests. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 6. p. 514—518. 1 Taf.)

Fuchs, Gilbert, Die Borkenkäfer. Fauna der bayerischen Hochebene und des Gebirges. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. II. 1904. Heft 6. p. 253—259.)

Gemmrig, V., Erfahrungen über die Verwendung schwacher Kupferhalkmischungen beim Bespritzen der Reben. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 3. p. 35—37.)

Gemmrig, Nochmals: Erfahrungen über die Verwendung schwacher Kupferkalkmischungen beim Bespritzen der Reben. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 5. p. 79.)

Gieseler, Der Spannerfraß in der Letzlinger Heide 1899 bis 1903. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jg. XXXVI. 1904. Heft 7. p. 432—445.)

Gillot, X., La maladie des plantes. (Bull. soc. hist. Autun 1903. 2 p.)

Goethe, Rudolf, Ueber den Krebs der Obstbäume. Berlin (Parey) 1904. 34 p. 28 Fig. 1 M.

Guillemin, F., Remarques personnelles et expériences faites sur la Pyrale pendant les années 1903 et 1904. [Suite.] (La vigne américaine. Macon. Année XXVIII. 1904. N. 4. p. 120—123.)

Hedgcock, C. G., A note on Rhizoctonia. (Science. Vol. XIX. 1904. p. 268.)

Henderson, L. F., Some experiments with Fungus diseases in 1903. (Idaho agric. exp. stat. Bull. 39. 1904. p. 257—272.)

Hennings, P., Einige schädliche Rußtaupilze auf kultivierten Nutzpflanzen in Deutsch-Ost-Afrika. (Notizbl. d. kgl. bot. Gart. u. Mus. Berlin 1903. p. 80—82.)

—, Ueber die auf Hevea-Arten bisher beobachteten parasitischen Pilze. (Notizbl. d. kgl. bot. Gart. u. Mus. Berlin. 4. 1904. N. 34. p. 133—138. 1 Taf.)

—, Verschiedenartige Pilze auf Blättern kultivierter Rhododendron Falconeri Hook. f. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 140—143.)

Hinds, W. E., Life history of the salt-marsh caterpillar (Estigmene acraea Dru.) at Victoria, Tex. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 80—84. M. Fig.)

Hine, James S., Some economic considerations with reference to the tabanidae. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. 1904. N. 46. Proc. XVI. ann. meet. of the Assoc. of economic. entomol. p. 23—25.)

—, Insects injurious to stock in the vicinity of the gulf biologic station. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 57—60.)

Hollrung, M., Bericht der Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten in Halle a. S. über die während des Jahres 1903 in Mitteldentschland beobachteten Krankheiten der Zuckerrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 10. p. 148—151.)

—, Die Blattminier- oder Runkelrübenfliege (Anthomyia conformis) in den Zuckerrüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XI. 1904. N. 11. p. 161—163. 1 Fig.)

Horecky, E. R., Die Kleeseide. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 26. p. 202—203.)

Hunger, F. W. T., De Mozaiek-Ziekte bij Deli-Tabak. Deel. 1. (Mededeelingen uit S'Lands Plantentuin. 63. 1903. 103 p.)

Johan-Olsen, Olav, Mykologiske under-søgelsor over sop paa furus pinderens larve (Gastropacha pini). (Skrifter udg. af Videnskabs-Selsk. i Christiania 1903. 1. math.-nat. kl. 1904. 24 p.)

Johnson, T., Willow canker, Physalospora (Botryosphaeria) gregaria Sacc. (Sc. Proc. Roy. Dublin. soc. 1904. 14 p. 3 Taf.)

Jones, L. R., Diseases of the potato in relation to its development. (Trans. Massachusetts hort. soc. 1903. p. 144—154.)

Jones, L. R. and **Morse, J. W.**, The relation of date of digging potatoes to the development of the rot. (Proc. soc. prom. agr. sc. 25. 1904. p. 91—95.)

d'Ippolito, G., Sulla puntatura del frumento. (Staz. Sperim. agr. 36. 1903. p. 1009—1014.)

Kindshoven, J., Bespritzungsversuche bei Obstbäumen mit Kupferkalk- und mit Kupfersodabrühe. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 4. p. 53—54. 1 Fig.)

Koningsberger, J. C., Ziekten von Rijst, Tabak, Thee en andere Cultuurgewassen, die door Insecten worden veroorzaakt. (Mededeelingen uit S'Lands Plantentuin. 44. 1903. 109 p. 5 Taf.)

Krüger, Friedrich, Aufruf zum Kampf gegen das Unkraut mit besonderer Berücksichtigung der Eisenvitriolbespritzungen. (Flugbl. 25. K. Gesundheitsamt. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Berlin (Parey) 1904. 8°.

Langenbeck, E., Die Pilzerkrankungen der Getreidearten im Sommer 1903 in ihrem Zusammenhang mit abnormen Witterungserscheinungen. (Königsberger Land- u. Forstw.-Ztg. Bd. XXXIX. 1903. p. 381—382.)

Latière, H., La mouche de l'olivier. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 21. p. 689—691.)

Laubert, R., Die Rotpustelkrankheit (Nectria cinnabarina) der Bäume und ihre Bekämpfung. (Flugbl. d. k. Gesundheitsamtes. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. 1904. N. 25. 4 p. 5 Fig.)

Laurent, J., Action comparée de la glycérine et d'un parasite sur la structure des végétaux. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 20. p. 927—929.)

Lehzen, Die Wachsmotte. (Bienenwirtschaftl. Centralbl. Jg. XL. 1904. N. 12. p. 181—182.)

Lesne, P., La galéruque de l'orme. (Journ. de l'agricult. prat. Année LXVIII. 1904. N. 14. p. 456—460. 1 Taf.)

—, Les insects des rosiers. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 22. p. 715—720. 1 Taf.)

—, Le Liparis dispar. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 26. p. 836—837. 3 Fig.)

Lewton-Brain, L., Fangoid pests, attacking cotton in the West Indies. (West Ind. Bull. Vol. IV. 1904. p. 344—348.)

Linhart, Die Peronospora- recte Pseudoperonosporakrankheit der Melonen und Gurken in Ungarn. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1903. Heft 3. p. 143—145.)

Lüstner, Gustav, Ueber die Ursache der sog. Mombacher Aprikosenkrankheit. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 49. p. 437—438.)

Lochhead, William, Some injurious insects of 1903 in Ontario. (U. St. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 79—81.)

Lutz, Adelfo e Splendore, Alfonso, Pebrina e microsporidi simiglianti. (Contribuzione alla conoscenza degli Sporozoari brasiliani. (Riv. di patol. veget. Vol. X. N. 5—12. 1901—02. ersch. 1904. p. 337—345.)

Marlatt, C. L., Importants of beneficial insects into California. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 50—56.)

Martin, E., Oidium et mildew. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 46. p. 182.)

Maskew, Fdk., Report of investigations and experiments on Fullers rose beetle in Southern California. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 46—50.)

Mazé, P., Recherches sur le mode d'utilisation du carbone ternaire par les végétaux et les microbes. 4. mém. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVIII. 1904. N. 5. p. 277—303. 4 Fig.)

Massalongo, C., Gymnosporangium clavariaeforme sul Juniperus. (Bull. Soc. Bot. Ital. 1904. N. 4. p. 158.)

McAlpine, D., Spraying for the black spot of the apple. (Journ. Agr. Victoria. Vol. II. 1903. Pt. 2. p. 354—360.)

—, Report of the Vegetable pathologist. (Journ. agr. Victoria. Vol. II. 1903. Pt. 3.)

—, Parasite on the Codlin Moth. (Journ. agr. Victoria. 1904. Pt. 5.)

—, Early blight of the potato, Alternaria solani Jones et Grout. (Journ. Agron. Victoria. 1904. Pt. 5.)

Montemartini, L., Nuova uridinea parassita delle Orchidee. (Uredo aurantiaca n. sp.) (Atti istit. bot. Pavia. 8. 1904. p. 99—103. 1 Taf.)

Matouschek, Franz, Ueber Nematoden-Gallen bei Laubmoosen. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904. Heft 5. p. 343—345.)

Müller, Zum Kampfe mit dem Unkraut. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 18. p. 455—456.)

N., Le phylloxera et Alsace-Lorraine. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 43. p. 170.)

Näf, A., Zur Bekämpfung der Mäuseplage. (Schweizer. Landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 25. p. 605—606.)

Neuberth, Die Vertilgung der Feldmäuse. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LIV. N. 13. p. 243—250.)

Newell, Wilmon, Insect notes from Georgia for the year 1903. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 103—105.)

Nicholls, H. M., Diseases of stored fruit. (Journ. of the depart. of agric. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 4. p. 246—247.)

Nobbe, Der gegenwärtige Stand der Kleeseidefrage. (Hannoversche Land- u. Forstwirtsch. Ztg. Jg. LVII. 1904. N. 24. p. 451—454.)

Nomura, H., Intorno alla ruggine del Rengesò (Astragalus sinicus L.) e a due nuovi micromiceti patogeni del Gelso. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 9. 1904. p. 13—14.)

Otto, Richard, Ueber durch kochsalzhaltiges Abwasser verursachte Pflanzenschädigungen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 136—140.)

Osborn, Herbert, Observations on some of the insects of the season in Ohio. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 88—92.)

v. Oven, E., Ueber den Befall der verschiedenen Rosenarten durch Phragmidium subcorticium (Schrank) in den Anlagen des k. pomologischen Instituts zu Proskau O.-S. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 4/5. p. 198—202.)

Pammel, L. H., Some unusual fungus diseases in Jowa during the summer of 1903. (Proc. soc. Prom. agr. sc. 25. 1904. p. 144—156.)

Pfeiffer, Carl, Bekämpfung der Blattlaus. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 50. p. 449.)

Piper, C. V., Notes on Peranabrus scabricollis. (U. St. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 60—62.)

Pösch, Karl, Mykopathologisches aus Ungarn. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 158—160.)

Pollaci, G., Sulla malattia dell' olivo della Brusca. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 9. 1904. p. 2—4.)

Préparation des remèdes contre le mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 10. p. 311—315.)

Puppel, Max, Hagel- und Insektenschäden. Vergleichende Zusammenstellung. 40 Taf. nach Original-Photographien u. Zeichn. v. A. Rehberg. Berlin (Parey) 1904. VII, 20 p. 8°. 4 M.

Rabaté, E., Bouillie Bordelaise soufrée et soufre sulfaté. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVIII. 1904. N. 22. p. 721—722.)

Rama-Rao, M., „Spike" disease among sandal trees. (Ind. Forester. 30. 1904. N. 2.)

—, Rost-parasitism of the sandal-tree. (Ind. Forester. 29. 1903. N. 9.)

Rebholz, F., Einiges über die wichtigsten Obstbaumschädlinge und ihre Bekämpfung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 7. p. 85—87.)

—, Die wichtigsten Krankheiten unserer Kohlpflanzen. (Wchnbl. d. landw. Ver. i. Bayern. Jg. XCIV. 1904. N. 16. p. 440—441. 1 Fig.)

Reuter, E., In Finnland im Jahre 1901 beobachtete Insektenschädlinge. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 154—158.)

Ribaga, Costantino, Gamasidi planticoli. (Riv. di patol. veget. Vol. X. N. 5—12. 1901—02. ersch. 1904. p. 175—178.)

—, Attività del Novius cardinalis Muls. contro l'Icerya Purchasi Mask. in Italia. (Riv. di patol. veget. Vol. X. N. 5—12. 1901—1902. ersch. 1904. p. 299—323.)

Ricard, J., Viticulture. Les insects nuisibles à la vigne. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 34. p. 134.)

—, Les insectes nuisibles à la vigne. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 35. p. 138.)

—, La tourne des vins. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 42. p. 166.)

—, Les rots de le vigne. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 47. p. 186.)

Ritzema Bos, J., Weitere Bemerkungen über von Tylenchus devastatrix verursachte Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 3. p. 145—150.)

—, „Kankerstronken" in de Kool, veroorzaakt door Phoma oleracea Saccardo. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. X. 1904. Afl. 3. p. 53—70. 3 Taf.)

—, De natuurlijke vijanden der schadelijke dieren. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. X. 1904. Afl. 3. p. 73—97.)

Ross, H., Die Gallenbildungen (Cecidien) der Pflanzen, deren Ursachen, Entwickelung, Bau und Gestalt. Ein Kapitel aus der Biologie der Pflanzen. Stuttgart (Ulmer) 1904. 40 p. 52 Fig. 2 M.

Rössig, Heinrich, Von welchen Organen der Gallwespenlarven geht der Reiz zur Bildung der Pflanzengalle aus? (Zool. Jahrb. Abt. f. Syst. Bd. XX. 1904. Heft 1. p. 19—90. 3 Taf.)

Ruhland, W., Der Hallimasch, ein gefährlicher Feind unserer Bäume. (Flugblätter d. k. Gesundheitsamtes. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. 1903. N. 22. 4 p. 5 Fig.)

—, Ein neuer verderblicher Schädling der Eiche. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 250—253.)

S. L., Traitement du mildiou et de l'oidium. (Journ. d'agric. Suisse. Année XXVI. 1904. N. 28. p. 246.)

Salmon, Ernest, S., Cultural experiments with the Barley Mildew, Erysiphe graminis DC. (Ann. Mycologici. Vol. II. 1904. N. 1. p. 70—99.)

—, Cultural experiments with „biologic forms" of the Erysiphaceae. (Proc. of the R. Soc. Vol. LXXIII. 1904. N. 489. p. 116—118.)

Sanderson, E. Dwight, Insects of 1903 in Texas. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 92—96.)

Saxer, Die Kartoffelkrankheit (Phytophthora infestans de Bary). (Der Landbote. Jg. XXV. 1904. N. 50. p. 626—627.)

Sch., Obstbaumschädlinge. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 18. p. 456—458. 1 Fig.)

Schander, R., Sollen wir 1-, 2- oder mehrprozentige Kupferkalkbrühe zum Bespritzen der Reben verwenden? (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 3. p. 33—35.)

Schellenberg, H. C., Der Blasenrost der Arve. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 6. p. 233—241. 2 Fig.)

—, Zur Schüttekrankheit der Arve. (Schweiz. Fortstw. Bd. II. 1904. p. 233—241.)

Schwarzbrache zur Pflege der Bodenbakterien. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 50. p. 445—446.)

Sedlaczek, Insektenvertilgung im Walde durch Haushühner. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXX. 1904. Heft 4. p. 151—154.)

Sempolowski, A., Nowy szkodnik buraczany. (Gaz. voln. Warszawa. T. XLIII. 1903. p. 281—822.) (Ein neuer Käfer als Verwüster der Rüben.)

Smith, G. J., The pine-apple disease of sugar cane. (Hawaii agr. exp. stat. press Bull. 1903. p. 1—3.)

Smith, A. L., Diseases of plants due to fungi. (Trans. British mycol. soc. 1903. p. 55—56.)

Smith, C. O., A few common plant diseases in Delaware. (Bull. Delaware agr. exp. stat. 63. 1904. p. 19—28.)

Slingerland, M. V., Some serious insect depredations in New York in 1903. (U. St. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. 1904. N. 46. p. 69—73. 1 Taf.)

—, Notes and New facts about some New York grape pests. (U. S. Depart. af agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 73—78.)

Solereder, H., Ueber Frostblasen und Frostflecken an Blättern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. N. 6/8. p. 253—262. 8 Fig.)

Stevens, F. L. and **Sackett, W. G.**, The Granville tobacco Wilt. Prelim-Bull. (N. Carolina. agr. exp. stat. Bull. 1903. p. 81—96.)

Stevens, F. L., Fungus enemies of apple, pear and quince. (N. Carolina. agr. exp. stat. Bull. 1903. p. 64—82.)

Störmer, Ueber eigentümliche, durch gleichzeitiges Auftreten der Radenkorn- und Federbuschsporenkrankheit verursachte Mißbildungen beim Spelz. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -Schutz. Jg. II. 1904. Heft 6. p. 75—78.)

Swezey, Otto H., Observations on the life history of Liburnia campestris, with notes on a hymenopterous parasite infesting it. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 43—46.)

Terasch, Der Drahtwurm als Rebschädling. (Die Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 27. p. 313—315.)

Theen, Heinrich, Die Dasselfliege und ihre Bekämpfung. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LIV. 1904. N. 14. p. 259—264.)

—, Ein gefährlicher Feind des Spargels. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 27. p. 211—212.)

Theobald, Frederick V., Three British fruit-tree pests liable to be introduced with imported nursery stock. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. 1904. N. 44. p. 62—69.)

The pine sawfly (Lophyrus pini Linn.). (Journ. of the board of agricult. Vol. X. 1904. N. 3. p. 388—392. 6 Fig.)

The Pine Sawfly (Lophyrus pini Linn.). (Board of agric. and fisheries. Leaflet. N. 103. 4 p. 6 Fig.)

The root-rot of Taro (Caladium esculentum). (Trop. agric. Colombo. 1904. N. 6.)

Thonger, C. G. Freer, Potato disease. (Agricult. Gazette. Vol. LIX. 1904. N. 1589. p. 378.)

Titus, E. S. G., The preliminary notes on the dover-seed chalcis-fly. (Bruchophagus funebris How.) (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 44. 1904. p. 77—80.)

Titus, E. S. G. and **Pratt, F. C.**, Catalogue of the exhibit of economic entomology at the Louisiana Purchase Exhibition, St. Louis. Mo. 1904. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. 1904. N. 47. 155 p.)

Treatment for Anthracnose or black-spot of grapes. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 2. p. 145—146.)

v. **Tubeuf**, Die Blattfleckenkrankheit der Kartoffel (Early Blight oder Leaf-spot disease) in Amerika. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 6. p. 264—269. 6 Fig.)

Ueber die Bekämpfung des Heu- oder Sauerwurmes. (Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 19. p. 217—220. 6 Fig.)

Vanselow, Karl, Polyporus-Schaden an Zwetschenbäumen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 4/5. p. 216—218. 1 Fig.)

Vertilgung der Wintersaateule. (Schweiz. Landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 19. p. 482—483. 3 Fig.)

Vogelmann, Praktische Erfahrungen über den Dickmaulrüßler und seine Bekämpfung. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 5. p. 71—72.)

—, Praktische Erfahrungen über den Dickmaulrüßler und seine Bekämpfung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 19. p. 191.)

Waburton, Cecil, Annual report for 1903 of the zoologist. (Journ. of the R. agricult. Soc. of England. Vol. LXIV. 1903. p. 310—327. 7 Fig. [fruit. pests. etc.].)

Vaňha, Joh. J., Blattbräune der Kartoffeln (Dürrfleckigkeit). (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 3. p. 113—127. 6 Taf.)

Watt, G. and **Mann, H. H.**, The pests and blights of the tea plant. (Edit. 2. Calcutta 1903. 429 p. 24 Taf.)

Washburn, F. L., Insects of the year in Minnesota, with data on the number of broods of cecidomyia destructor Say. (U. S. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 99—102.)

Webster, J. M., Insect Pests of Plants, and their effect on American Agriculture. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. IX. 1904. P. 3. p. 150—164.)

Webster, F. M., Some insects attacking the stems of crowing wheat, rye, barley, and oats with methods of prevention and suppression. (U. S. Depart. of agricult. Division of entomol. Bull. N. 42. 1903. 62 p. 8°. 14 Fig.)

Weed, Clarence, M., The brown-tail moth in New Hampshire. (U. St. Depart. of agric. Divis. of entomol. Bull. N. 46. 1904. p. 107—108.)

Weichardt, Oskar, Neue Gesichtspunkte zur völligen Bekämpfung der Reblaus und zur Erhaltung unseres heimischen Weinbaues. Erfurt (Schmidt) 1904. 38 p. m. Fig. —,80 M.

Weiss, J. E., Bekämpfung der Obstbaumkrankheiten im Frühjahr. (Dtsche landw. Ztg. Jg. XLVII. 1904. N. 23. p. 136.)

Wilcox, E. M., A leaf-curl disease of oaks. (Alabama agric. exp. stat. bull. 1903. M. Taf.)

Woods, A. F., Bacterial Spot, a new disease of Carnations. (Science. Vol. XVIII. 1903. p. 537—538.)

Zacharewicz, E., La fumaginede l'olivier et le Cyclocomium oleaginum. Quelques ennemis de l'olivier. Cultures et fumures. (Rev. viticol. Vol. XX. 1903. p. 209—215.)

v. **Zelles, Aladár**, Die Heuschreckengefahr in Ungarn. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 19. p. 146—147.)

Zmavc, A., 1-, 2- oder 3-proz. Kupferkalkmischung zum Spritzen der Reben? (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XVI. 1904. N. 3. p. 37—39.)

Žmavc, 1-, 2- oder 3-proz. Kupferkalkmischung zum Spritzen der Reben? (Die Weinlaube. Jg. XXXVI. 1904. N. 5. p. 49—52.)

Zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 29. p. 289—290. 1 Fig.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Adie, J. R., Lemna minor as a preventive against mosquitoes. (Indian med. Gaz. Vol. XXXIX. 1904. N. 6. p. 207—208.)

Küster, Untersuchungen über Bakterienvernichtung durch den Sauerstoff der Luft und durch Wasserstoffsuperoxyd. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. p. 364—387. 5 Fig.)

Moore, George T. and **Kellermann, Karl F.**, A method of destroying or preventing the growth of Algae and certain pathogenic Bacteria in water supplies. (U. St. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. 1904. N. 64. 44 p.)

Neue Rebenschwefler. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 26. p. 259—260. 3 Fig.)

Schuler, Meinrad, Die Bekämpfung der Maikäfer und der Engerlinge. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 27. p. 651—653.)

Wagner, Fr., Die Bekämpfung der Blattläuse und des Rußtaus bei Hopfen durch Eintauchen der Pflanzen in Schmierseifenlösung. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau- u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 7. p. 87—93.)

Werner, G., Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. Heft 4. p. 305—363.)

Inhalt.

Referate.

Cocconi, G., Ricerche intorno ad una nuova mucorinea del genere Absidia, p. 738.

—, Intorno ad una nuova specie di Chaetomium, p. 738.

Danysz, J. et **Wize, K.**, Les entomophytes du charançon de betteraves à sucre. (Cleonus punctiventris), p. 747.

Guilliermond, A., Nouvelles recherches sur l'épiplasma des Ascomycètes, p. 737.

Matouschek, Franz, Die Pilze des Reichenberger Bezirkes, p. 738.

Mayr, H., Ist der Schüttepilz (Lophodermium Pinastri) ein Parasit? p. 743.

Brevi note di patologia vegetale e botanica sistematica, p. 743.

Stift, A., Ueber die im Jahre 1903 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, p. 745.

Sydow, H. und **P.**, Nomenklatorische Bemerkungen zu einigen kürzlich neu beschriebenen Pilzarten, p. 739.

— —, Neue und kritische Uredineen. I., p. 739.

— —, Diagnosen neuer Uredineen und Ustilagineen nebst Bemerkungen zu einigen bereits bekannten Arten, p. 741.

Voss, W., Ueber Schnallen und Fusionen bei den Uredineen, p. 742.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sechsundzwanzigster Jahresbericht der Schweizerischen Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt in Zürich, p. 750.

Neue Litteratur, p. 751.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XII. Band. Jena, den 4. Oktober 1904. **No. 26.**

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XII enthaltenen Arbeiten.

Abbado, M., Monografia dei generi Allescherina e Cryptovalsa. 138
Aderhold, Erwiderung auf J. Brzeziński, Einige Bemerkungen über die Krebs- und Gummikrankheit der Obstbäume. *(Orig.)* 639
Alliot et Gimel, De l'action des oxydants sur la pureté des fermentations industrielles. 519
Baer, W., Beobachtungen über Lyda hypotrophica Htg., Nematus abietinus Chr. und Grapholitha tenella Cl. 515
Baur-Breitenfeld, K. v., Enzyme und Fermente. 470
Bellei, G., Intorno ad una speciale reazione del latte. 518
Bersteyn, P., Ueber einige in den Kulturen zur Reinzüchtung der Nitratbildner regelmäßig auftretende Bakterienarten. 493
Bleisch, C. und **Regensburger, P.**, Wie weit wird der Endvergärungsgrad von Maischtemperatur und Maischverfahren beeinflußt. 479
Boden, Beschädigung der jungen Kiefernkulturen durch wurzelbrütende Hylesinen im akademischen Lehrrevier Freienwalde a./O. 515

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Blähung im Edamer Käse. *(Orig.)* 89
— —, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. *(Orig.)* 675
— —, Ueber eine die Gelatine verflüssigende Milchsäurebakterie. *(Orig.)* 587
Bokorny, Th., Beeinflussung des Hefeinvertins durch konzentrierte Zuckerlösungen. 122
—, Einige Beobachtungen über Essigbildung. 484
—, Empfindlichkeit der Enzyme, speziell der Laktase gegen Alkohol und Säuren. 124
—, Ueber das verschiedene Gäraroma, je nach den Gärungsbedingungen. 482
—, Ueber die Fruchtätherbildung bei der alkoholischen Gärung. 480
—, Vergärung von Rohrzucker und Malzzucker bei hoher Zuckerkonzentration. 119
Bouilhac et **Giustiniani**, Sur des cultures de diverses plantes supérieures en présence d'un mélange d'algues et de bactéries. 500
Braun, R., Reinzucht aus Faßgeläger. 475
Brenner, W., Die Schwarzfäule des Kohls. *(Orig.)* 725
Brizi, V., Sulle alterazioni prodotte alle piante coltivate dalle principali emanazioni gasose degli stabilimenti industriali. 327
Brzeziński, J., Einige Bemerkungen über die Krebs- und die Gummikrankheit der Obstbäume. *(Orig.)* 632
Bubák, Franz, Die Feldmaus als Schädling des Getreides und der Zuckerrübe. 508
—, Infektionsversuche mit einigen Uredineen. II. Bericht. *(Orig.)* 411
—, Zwei neue Pilze aus Ohio. 141
Buchner, Eduard und **Meisenheimer, Jakob**, Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. 474
Buhlert, Die Lebensbedingungen der Salpeterbakterien. 494
Burri, R., Ueber einen schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium Güntheri und eine durch denselben hervorgerufene schwere Betriebsstörung in einer Emmenthaler Käserei. *(Orig.)* 192
Busse, Walther, Ueber die Krankheiten der Sorghumhirse in Deutsch-Ostafrika. 142
Cannon, M. J., Invertase. 472
Catterina, G., Beitrag zum Studium der thermophilen Bakterien. *(Orig.)* 353
Cazzani, E., Sulla comparsa della Peronospora cubensis Beck. et Curt. in Italia. 744
Chaine, J., s. **Kunstler, J.**
Chlopin, G. W. und **Tammann, G.**, Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen. 309
Cocconi, G., Intorno ad una nuova specie di Chaetomium. 738
—, Ricerche intorno ad una nuova mucorinea del genere Absidia. 738
Constantin et **Lucet**, Sur le Sterigmatocystis pseudo-nigra. 503
Conte, A., s. **Vaney, C.**
Coupin, H., s. **Molliard, M.**
Coupin, Sur l'assimilation des alcools et des aldéhydes par le Sterigmatocystis nigra. 486

Danysz, J. et **Wize, K.**, Les entomophytes du charançon des betteraves à sucre. (Cleonus punctiventris.) 747
Davis, B. F. und **Ling, A. R.**, Einwirkung der Malzdiastase auf Kartoffelstärkekleister. 474
Delacroix, Edouard-Georges, Travaux de la station de pathologie végétale. 118
Delacroix, G., Die Gelbblaubigkeit der Zuckerrübe (la jaunisse de la betterave). 323
—, Sur un chancre du Pommier produit par le Sphaeropsis malorum Peck. 509
Diedicke, H., Sphärioideen aus Thüringen. 507
Dietel, P., Betrachtungen über die Verteilung der Uredineen auf ihren Nährpflanzen. *(Orig.)* 218
—, Uredineae japonicae. IV. 507
Düggeli, Max, Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. *(Orig.)* 602. 695

Eberhardt, Albert, Contribution à l'étude de Cystopus candidus Lév. *(Orig.)* 235. 426. 614. 714
Enderlein, G., Micropsocus musae (Kunstler et Chaine), eine vermeintliche Gallmücke (Kiefferia musae n. g. n. sp. Kunstler et Chaine). 514

Farneti, R., Intorno alla malattia del caffè sviluppatasi nelle piantagioni di Cuicatlan (Oaxaca, Mexiko). 744
Felt, C. P., 1903, 18th report of the State Entomologist on injurious and other insects of the State of New York. 145
Fernald, Maria E., A catalogue of the Coccidae of the world. 146
Ferraris, T., Il „Brusone" (Feuerkrank-

heit) del Riso e la „Piricularia Oryzae". 144
Fischer, H., s. **Wohltmann, F.**
Fischer, Hugo, Ueber Symbiose von Azotobacter mit Oscillarien. *(Orig.)* 267
Gassert, Zur Bekämpfung der Kiefernschütte. 151
Gerlach, Die Nutzbarmachung des atmosphärischen Stickstoffes. 495
Geucke, Wilhelm, Die Gemeingefährlichkeit der Baumschwämme und deren Bekämpfung. 152
Gimel, s. **Alliot.**
Giustiniani, s. **Bouilhac.**
Gorini, C., Ueber die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse. *(Orig.)* 78
Guilliermond, A., Contribution à l'étude des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des champignons. 477
—, Nouvelles recherches sur l'épiplasma des Ascomycètes. 737
—, Recherches cytologiques sur les levures. 476
—, Recherches sur la germination des spores dans le Saccharomyces Ludwigii (Hansen). 478

Hall, C. J. J. van, Das Absterben der Stöcke der Johannis- und Stachelbeeren, verursacht von Cytosporina Ribis P. Magnus (n. sp.). 320
—, Das Faulen der jungen Schößlinge und Rhizome von Iris florentina und Iris germanica, verursacht durch Bacillus omnivorus v. Hall und durch einige andere Bakterienarten. 507
Hansen, Emil Chr., Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. *(Orig.)* 529
Harold, Johnson, The enzymes. 471
Hastings, E. G., The action of various classes of bacteria on casein as shown by milk-agar plates. *(Orig.)* 590
Heck, Vom Tannenkrebs. 319
Hecke, Ludwig, Beizversuche gegen Hirsebrand. 331
Heinze, Berthold, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. *(Orig.)* 43. 177. 355
Henneberg, W., Einfluß verschiedener Milchsäurebacillenarten und einer Essigsäurebakterienart auf die Gärung der Hefe in Getreidemaische. (Schädliche Milchsäurebacillen.) 116
—, Eingesandte Holzproben aus gereinigten Brennereigärbottichen. 115
Hennings, P., Battareopsis Artini n. g., sowie andere von Prof. Dr. G. Schweinfurth in Aegypten 1901—1902 gesammelte Pilze. 513
Hennings, P., Ueber die in den Gebäuden auftretenden wichtigsten holzbewohnenden Schwämme. 513
Henzold, O., s. **Uhl.**
Hiltner, L., Bericht über die Ergebnisse der im Jahre 1903 in Bayern ausgeführten Impfversuche mit Reinkulturen von Leguminosen-Knöllchenbakterien (Nitragin). 497
— und **Störmer,** Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. 126
Hinsberg und **Roos,** Ueber einige Bestandteile der Hefe. 478
Höhnel, Franz v., Fragmente zur Mykologie. I. Mitteilung. 130
Hollrung, M., Gutachten über Schädlinge der Kokospalme im Bismarckarchipel. 319

26. Jahresbericht der Schweizerischen Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt in Zürich. II. Teil. C. Pflanzenschutz. Berichterstatter **A. Volkart.** 750
Janssens et **Mertens,** Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose. 314
Iterson, G. van, Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien. *(Orig.)* 106

Keller, C., Beobachtungen über die Lebensweise des Arvenborkenkäfers (Tomicus Cembrae Heer). 148
Kellerman, William, A., Puccinia lateripes B. et Rav. an Aut-eu-Puccinia. 505
—, The alternate form of Aecidium hibisciatum. 505
—, Uredineous infection experiments in 1902. 505
—, — — — 1903. 506
Kienitz-Gerloff, Bakterien und Hefen, insbesondere in ihren Beziehungen zur Haus- und Landwirtschaft, zu den Gewerben, sowie zur Gesundheitspflege. 465
Kirchner, O., Versuche zur Bekämpfung der Getreidebrandkrankheiten. 330
Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze. Versuche einer Gesamtdarstellung ihrer biologischen Verhältnisse. 504
Klöcker, A., Sur la classification du genre Penicillium et description d'une

espèce nouvelle formant des asques. 501
Kreuzpointner, J., Pflanzenkrankheiten und Universalmittel dagegen. 150
Kruis, Karel, s. **Rayman, Bohuslav.**
Kunstler, J. und **Chaine, J.,** Kiefferia musae nov. gen., nov. spec. — Cécidomyide nouvelle. 514

Laborde, Les ferments de la maladie du vin poussé ou tourné. 488
Laubert, R., Ascochyta caulicola, ein neuer Krankheitserreger des Steinklees. 137
—, Zur Morphologie einer neuen Cytospora. *(Orig.)* 407
Leonardi, G., Generi e specie di Diaspiti. Saggio di sistematica delle Mytilaspides. 147
—, Generi e specie di Diaspiti. Saggio di sistematica delle Parlatoriae. 147
Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis der Erblichkeit bei den einzelligen Organismen. Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie (Bacillus Berestnewi n. sp.). *(Orig.)* 641
Leschtsch, Marie, Gärung und Atmung verschiedener Hefearten in Rollkulturen. *(Orig.)* 649
Lewandowsky, Felix, Ueber das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. 467
Lindner, P., Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde, mit besonderer Berücksichtigung der biologischen Betriebskontrolle. 310
Ling, A. R., s. **Davis, B. F.**
Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. *(Orig.)* 262. 448
Loew, Oscar, Bemerkung über den Bacillus methylicus. *(Orig.)* 176
Lott, Zersetzung von Salicylsäurelösungen durch Schimmelpilze. 501
Lucet, s. **Constantin.**
Ludwig, F., Zwei neue Pflanzenschädlinge unserer Gewächshäuser und Gärten. 513
Lüke, Weiteres zur Lyda-Kalamität. 148

Magerstein, Vinz. Th., Das Wesen des Dr. Büchelerschen Verfahrens zur Herstellung einer 24-stündigen Kunsthefe ohne Milchsäuregärung. 517
Magnus, P., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Pilze des Orients. 141
—, Melampsorella Feurichii, eine neue Uredinee auf Asplenium septentrionale. 503
Maire, R. et **Saccardo, P. A.,** Notes mycologiques. 502
Malenković, B., Mit der Sporenkeimung zusammenhängende Versuche mit Hausschwamm. 512
—, Zur Hausschwammfrage. 511
Marchal, E., De la spécialisation du parasitisme chez l'Erysiphe graminis. 503
Marshall, Charles E., Additional work upon the associative action of bacteria in the souring of milk. *(Orig.)* 593
Massalongo, C., Di un nuovo genere de Ditteri galligeni. 146
—, Nuovi Zoocecidii della flora veronese. 146
—, Scopazzi di natura parassitaria osservati su pianti di Pieris hieracioides. 146
Matouschek, Franz, Die Pilze des Reichenberger Bezirkes. 738
Mayr, H., Ist der Schüttepilz (Lophodermium Pinastri) ein Parasit? 743
Mazé, P., Quelques nouvelles races de levures de lactose. 312
Meisenheimer, Jakob, s. **Buchner, Eduard.**
Meissner, Ernst, Accomodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze. 135
Mencl, Em., Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. *(Orig.)* 559
Mertens, s. **Janssens.**
Mokrzecki, S. A., Ueber die Anwendung des Chlorbaryums gegen schädliche Insekten in Gärten und auf Feldern. 520
Molisch, Hans, Photographieen im Bakterienlichte. 310
Molliard, M. und **Coupin, H.,** Sur les formes tératologiques du Sterigmatocystis nigra privé de potassium. 144
Muth, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden. 126

Nathan, Leopold, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. *(Orig.)* 93
Naumann-Wender, Die Hefekatalase. 473
Neide, Ernst, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. *(Orig.)* 1. 161. 337. 539
Nikolski, M., Ueber den Einfluß der Nahrung von verschiedenen Kohlehydraten auf die Entwickelung der Schimmelpilze. *(Orig.)* 554. 656
Nilson, A., Die Ursache des Wachstums der Gerste. 500
Nohmura, H., Intorno alla ruggine del rengesò (Astragalus sinicus) e a due

nuovi micromiceti patogeni del gelso. 744
Omeis, Th., Ueber die an der landwirtwirtschaftlichen Kreisversuchsstation zu Würzburg ausgeführten Versuche und Untersuchungen bezüglich Bekämpfung der Peronospora viticola de By. (Blattfallkrankheit der Rebe). 150
Omelianski, W., Die histologischen und chemischen Veränderungen der Leinstengel unter Einwirkung der Mikroben der Pektin- und Cellulosegärung. *(Orig.)* 33
Oppenheimer, Carl, Angebliche Stickstoffgärung durch Fäulnisbakterien. [Zu der Arbeit von A. Schittenhelm und F. Schröter: „Ueber die Spaltung der Hefennukleinsäure durch Bakterien".] 492
Orlowski, S. F., Ueber die Wirkung des Arsens auf das Wachstum und die chemische Zusammensetzung von Aspergillus niger. 136
Osterwalder, A., Beiträge zur Morphologie einiger Saccharomyceten-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweinhefen. 486
Ott de Vries, J. J., s. **Boekhout, F. W. J.**

Papenhausen, A., Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung bei den Bakterien. 466
Peglion, V., Di una speciale infezione crittogamica dei semi di erba medica e trifoglio. 511
Pollacci, G., Sulla malattia dell' olivo detta „Brusca". 744

Ravaz, L. et **Sicard, L.,** Sur la brunissure de la vigne. 322
Rayman, Bohuslav et **Kruis, Karel,** Études chimiques et biologiques. Partie III. 469
Regensburger, P., s. **Bleisch, C.**
Reisch, R., s. **Seifert, W.**
Remy, Stickstoffbindung durch Leguminosen. 498
Ritzema Bos, Drei bis jetzt unbekannte, von Tylenchus devastatrix verursachte Pflanzenkrankheiten. 514
Rodella, A., Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Buttersäurebacillen für den Reifungsprozeß der Hartkäse. IV. *(Orig.)* 82
Rogers, L. A., Ueber die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. *(Orig.)* 388. 597
Roos, s. **Hinsberg.**
Rosam, Kundrát, Beitrag zur Agarbereitung. *(Orig.)* 464
Rosendahl, C. O., A new species of Razoumofskya Minnesota. 137
Rostowzew, S. J., Beiträge zur Kenntnis der Peronosporeen. 520
Rothenbach, Ein neues Verfahren zum Sterilisieren von Flüssigkeiten. 152
Rothert, Die Sporenentwickelung bei Aphanomyces. 502
Ruhland, W., Ein neuer, verderblicher Schädling der Eiche. (Vorläufige Mitteilung.) *(Orig.)* 250
Rullmann, W., Ueber Reaktionen des oxydierenden Enzyms der Kuh- und Frauenmilch. 489

Saccardo, P. A., s. **Maire, R.**
Saccardo, P. A., Flora mycologica Lusitanica. 140
—, Una malattia crittogamica nei frutti di mandarino: Alternaria tenuis forma chalaroides Sacc. 510
Sawamura, S., On the curing of the kaki fruits. 315
Scheibe, A., Die Bestimmung des Milchzuckers in der Milch durch Polarisation und Reduktion. 328
Schellenberg, Die Nadelschütte der Arve. 317
Schellenberg, H. C., Ueber neue Sklerotinien. (Vorläuf. Mitteilung.) *(Orig.)* 735
Schidrowitz, Philip, Some experiments on the proteolytic enzyme of malt. 472
Schiff, Ruggero, Bakteriologische Untersuchung über Bacillus Oleae (Arc.). Vorläufige Mitteilung. *(Orig.)* 217
Schleyer, Das Schwarzwerden des Meerrettichs. 510
Schneider, Ph., s. **Wohltmann, F.**
Schneidewind, Die Gründüngung auf besserem Boden. 499
Schorler, B., Beiträge zur Kenntnis der Eisenbakterien. *(Orig.)* 681
Schultz, Zur Frage der Unkrautvertilgung. 520
Segin, Adalbert, Zur Einwirkung von Bakterien auf Zuckerarten. (Zweite Mitteilung.) *(Orig.)* 397
Seifert, W. und **Reisch, R.,** Zur Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung. *(Orig.)* 574
Sicard, L., s. **Ravaz, L.**
Solereder, H., Ueber Frostblasen und Frostflecken an Blättern. *(Orig.)* 253
Stefani-Perez, T. de, Alterazioni tardive di alcune piante per influsso di insetti. 145
—, L'Asterolecanium variolosum Rotz. 145

Stefani-Perez, T. de, Nuovi insetti galligeni e cecidi vecchi e nuovi. 146
Stift, A., Ueber die im Jahre 1903 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. 745
Störmer, s. Hiltner.
Störmer, K., Die Dufoursche Lösung und ihre Anwendbarkeit zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen. 330
Swellengrebel, N., Ueber pasteurisierte Milch. *(Orig.)* 440
Sydow, H. und P., Beitrag zur Pilzflora des Litoral-Gebietes und Istriens. 139
—, Diagnosen neuer Uredineen und Ustilagineen, nebst Bemerkungen zu einigen bereits bekannten Arten. 741
—, Die Mikrosporen von Anthoceros dichotomus Raddi, Tilletia abscondita Syd. nov. spec. 137
—, Neue und kritische Uredineen. I. 739
—, Nomenklatorische Bemerkungen zu einigen kürzlich neu beschriebenen Pilzarten. 739

Tammann, G., s. Chlopin, G. W.
Teichert, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze. 492
Telesnin, L., Der Gaswechsel abgetöteter Hefe (Zymin) auf verschiedenen Substraten. *(Orig.)* 205
Trotter, A., Cecidologia o cecidiologia. 325
—, Discrizione di varie galle dell' America del Nord. 327
—, Di una forte infezione di Anguillule radicicole in piante di garofano. 326
—, Elenco di galle raccolte in Ispagna. 326
—, Miscellanee cecidologiche. 325
—, Nuovi zoocecidi della Flora italiana. 325
—, Progresso ed importanza degli studi cecidologici. 326
Tubeuf, C. v., Die Gipfeldürre der Fichten. 317
Turconi, M., Sopra una nuova specie di Cylindrosporium parassita dell'Ilex furcata Lindl. 744

Uhl und **Henzold, O.,** Zum Nachweis von Alkohol in Milch. 329
Vaney, C. und **Conte, A.,** Sur un diptère (Degeeria funebris Mg.) parasite de l'Altise de la vigne (Haltica ampelophaga). 149
Vaňha, Joh., Blattbräune der Kartoffeln (Dürrfleckigkeit). 321
Vestergren, Tycho, Zur Pilzflora der Insel Oesel. 139
Volkart, A., s. 26. Jahresbericht der Schweizer Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt in Zürich.
Voss, W., Ueber Schnallen und Fusionen bei den Uredineen. 742

Warschawsky, J., Die Atmung und Gärung der verschiedenen Arten abgetöteter Hefe. *(Orig.)* 400
Wender, Ueber die Entstehung des Fuselöls im Branntweine. 487
Went, F. A. F. C., West-Indien en de Serehziekte. 507
Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. 311
—, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. *(Orig.)* 294
Winkler, W., Der gegenwärtige Stand der Käsereifungsfrage. Kritisches Referat. 97. 273
Winter, H., Biological examinations in the layer beer brewers laboratory and their significance. 487
Wize, K., s. Danysz, J.
Woernle, Schutz der Nadelholzpflanzen gegen Wildverbiß durch Umwickelung des Spitztriebes mit Draht. 153
Wohltmann, F., Fischer, H. u. Schneider, Ph., Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem (Poppelsdorfer) Versuchsfelde. *(Orig.)* 304
Wurth, Th., Kulturversuche mit Puccinien vom Typus der Puccinia Galii (Pers.) (Vorläuf. Mitteilung.) *(Orig.)* 713
Zikes, Heinrich, Ueber den Einfluß verschiedener aus Wasser isolierter Bakterienarten auf Würze und Bier. *(Orig.)* 289
—, Ueber die Einwirkung des Sonnenlichtes auf Glukose. *(Orig.)* 292
—, Zur Einführung eines neuen Nährbodens für gärungsphysiologische Arbeiten. *(Orig.)* 293
Zimmermann, A., Untersuchungen über tropische Pflanzenkrankheiten. (Erste Mitteilung.) 315

II. Namen- und Sachregister.

Aelchen, Schädlinge der Nelken. 326
Absidia scabra n. sp. Cocconi, Morphologie und Fortpflanzung. 738
Absterben der Johannis- und Stachelbeerstöcke, Ursache. 320
Abtötungszeit der Sporen zur Bestimmung der Bakterienspecies. 2
Abwasser, Ursache der Selbstreinigung. 112
Acetylen, vegetationsschädlich. 327
Acridium tartaricum, Schädling des Gemüses. 513
Acrothecium Anixiae n. sp. Höhnel auf faulem Eichenholze. 131
Actinomycesarten, Vorkommen in Würze und Bier. 291
Adoxa moschatellina L., Wirt von Uredineen. 412
Aecidium auf Ranunculus auricomus, Infektion von Poa nemoralis. 422
— Aikeni n. sp. Sydow auf Thalictrum purpurascens. 741
— Cardiandrae n. sp. Dietel auf Cardiandra alternifolia. 507
— Cardiospermi Cke. auf Cardiospermum microcarpum. 741
— Carpochaetes n. sp. Sydow auf Carpochaetes Grahami. 742
— caulicolum, Beziehung zu Puccinia caulicola. 506
— Cirsii-lanceolati Kellerm., Beziehung zu Puccinia Cirsii-lanceolati Schroet. 507
— Clibadii Syd. auf Clibadium Donnell-Smithii et asperi. 741
— elatinum, Verwendung bei der Bekämpfung des Tannenkrebses. 319
— — Alb. et Schw., Zugehörigkeit zu Melampsorella Caryophyllacearum. 422
— Enkianthi n. sp. Dietel auf Enkianthus japonicus. 507
— erigeronatum Schw., Beziehung zu Puccinia Caricis-erigerontis Arth. 506
— Euphorbiae Gmel. auf Euphorbia carniolica Jcq. 140
— — —, Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Fraxini-Bungeanae n. sp. Dietel auf Fraxinus Bungeana. 507
— Galasiae n. sp. Sydow auf Galasia villosa Cass. 140
— Grindeliae Sydow, Diagnose. 742
— hibisciatum Schw., Beziehung zu Puccinia Muhlenbergiae Arth. 505
— Hydrangeae-paniculatae n. sp. Dietel auf Hydrangea paniculata. 507
— Isoglossae n. sp. Sydow auf Isoglossa lactea. 741
— lateripes Kellerm., Beziehung zu Puccinia lateripes Berk. et Rav. 506
Aecidium Lilii-cordifolii n. sp. Dietel auf Lilium cordifolium. 507
— Lycopi Ger., Beziehung zu Puccinia angustata Peck. 506
— melanotes n. sp. Sydow auf Tetranthera amara. 742
— Orchidearum Desm. auf Habenaria gracilis. 742
— Polygoni-cuspidati n. sp. Dietel auf Polygonum cuspidatum. 507
Agar, Herstellung der Präparation für den Nährboden. 464
Akariden, Schädlinge der Kokospalme. 319
Akkommodationsfähigkeit der Schimmelpilze. 135
Aleuria cerea, Kernteilung. 738
— —, Vorkommen metachromatischer Körperchen. 737
— olivea, Vorkommen metachromatischer Körperchen. 737
— vulgaris, Vorkommen metachromatischer Körperchen. 737
Algen, Stickstoffbindung in sterilem Boden. 500
Alizarin, Färbung des Bakterienkernes. 469
Alkohol, Nachweis in Milch. 329
—, Wirkung auf Enzyme. 124
Allescherina Clematidis (Br. et Har.) Berl. auf Clematis-Stengeln. 138
— (?) crotonicola (Rehm) Berl. auf Croton-Zweigen. 138
— deusta (Ell. et Mart.) Berl. auf Sabal serrulata. 138
— effusa (Fuck.) Berl. auf Rosa canina. 138
— eutypaeformis (Sacc.) Berl. auf Acer-Holz. 138
— Rubi (Pass. et Beltr.) Berl. auf Rubus-Ranken. 138
— sparsa (Ell. et Ev.) Berl. auf Quercus-Zweigen. 138
— tenella (Sacc.) Berl. auf Acacia-Zweigen. 138
— Terebinthi (Ces.) Berl. auf Pistacia Terebinthus. 138
Alternaria macrospora n. sp. Zimmermann auf Gossypium. 316
— tenuis forma chalaroides Sacc., Ursache einer Mandarinenkrankheit. 510
— — auf Luzernen- und Kleesamen. 511
Althaea officinalis, Gallenbildung. 325
Aluminium, Wirkung auf d. Gärung. 94
Amanita muscaria, Glykogengehalt. 53
Amauroascus, metachromatische Körperchen. 477
Amsel, Schädling von Obst- und Zierpflanzen. 514

Amylalkohol, Bildung in vergorenen Flüssigkeiten. 470
Amylomyces β, Einfluß verschiedener Kohlehydrate auf die Entwickelung. 558. 656
— —, Einfluß verschiedener Kohlehydrate auf die Stickstoffbildung. 667
Andricus Targioni Kieffer auf Quercus pedunculata, Gallenbildung. 325
Andropogon Sorghum, Wirt von Cercospora Sorghi. 315
— —, Wirt von Colletotrichum Andropogonis n. sp. Zimmermann. 315
— Sorghi, Wirt von Darluca Sorghi n. sp. Zimmermann. 315
— —, Wirt von Puccinia purpurea Cooke. 315
Auixia Bresadolae Höhnel auf faulem Eichenholze. 131
— myriasca n. sp. Höhnel, Vorkommen auf dem Schneeberge (Nieder-Oesterreich). 131
Antennaria Unedonis n. sp. Maire et Saccardo auf Arbutus Unedo. 502
Anthoceros dichotomus Raddi, Mikrosporen. 137
Antiformin als Desinfektionsmittel. 116
Apfelbaum, Ursache des Krebses. 509
Aphanomyces, Sporenentwickelung. 502
Aphelenchus olesistus auf Cystopteris. 514
Aphiden, Schädlinge der Sorghumpflanze. 142
Aphidida auf Peucedanum Cervaria, Gallenbildung. 326
Aphis urticaria, Gallenbildung. 325
Aporia Hyperici Vesterg. auf Hypericum quadrangulum. 139
Aprikosenblatt, Frostblasen. 253
Arabis alpina, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 430
Arachis hypogaea, Wirt von Septogloeum Arachidis Rac. 315
Argyresthia illuminatella, Fichtenschädling. 517
Armillaria mellea, Vorkommen in Gebäuden. 513
Aroma, Gär-, durch Zymase gebildet. 482
Arsen, Wirkung auf Aspergillus niger. 137
Arve, Erreger der Nadelschütte. 317
Arven-Borkenkäfer s. Tomicus Cembrae Heer.
Ascobolus marginatus, metachromatische Körperchen. 477
Ascochyta caulicola n. sp. Laubert auf Melilotus albus. 137
— Phytolaccae n. sp. Saccardo auf Phytolacca decandra. 140
— ricinella n. sp. Saccardo auf Ricinus communis. 140
Ascochyta Solani-nigri n. sp. Diedicke auf Solanum nigrum. 507
Askomyceten, Glykogengehalt. 53
—, metachromatische Körperchen. 477. 737
Aspergillus citrisporus n. sp. Höhnel auf Raupenkot. 132
— niger, Einfluß von Arsen. 137
— —, Einfluß verschiedener Kohlehydrate auf die Entwickelung. 555
— —, Gewöhnung an Gifte. 135
— —, Oxalsäurebildung aus Glykogen. 181
Aspidiotus destructor, Schädling der Kokospalme. 319
Assali-Krankheit der Sorghumpflanzen, Ursache. 142
Assimilation von Alkoholen und Aldehyden bei Sterigmatocystis nigra. 486
Asterolecanium variolosum Rotz auf Pittosporon Tobira. 145
Asterosporium Hoffmanni Kze., Entwickelungskreis. 133
Astragalus glycyphyllos, Gallenbildung. 325
Atmung s. Gaswechsel.
— abgetöteter Hefe. 400
— verschiedener Hefearten in Rollkulturen. 649
Augasma aeratella, Gallenbildung. 325
Aulax Hypochaeridis, Gallenbildung. 325
Auteupuccinia s. Puccinia albescens (Grev.) Plowright.
Azotobacter chroococcum, Symbiose mit Oscillarien. 267
Azotobacterarten, Erhöhung der N-sammelnden Energie durch Bodendurchlüftung. 496
Azotobacterorganismen, Glykogenbildung. 57
—, Verarbeitung von Glykogen. 186
Bacillus, Einteilung der Species. 550
—, Vorkommen in konzentrierten Salzlösungen. 468
— coli communis, Glykogengehalt. 53
— — —, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— cucumeris fermentati, Einfluß auf die Hefegärung. 117
— cursor s. Bacillus robur A. M. et Neide.
— cyano-fuscus, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
— filiformis s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— aërogenes, Erreger der Käseblähung. 101
— agglomeratus s. Bacillus lactis Flügge.

Bacillus albolactis s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— albuminis s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
— alvei Krompecher, Abtötungszeit der Sporen. 3
— — —, Agarstichkultur. 547
— — —, Agarstrichkultur. 547
— — —, Beweglichkeit. 547
— — —, Beziehung zum Bacillus sphaericus A. M. et Neide. 549
— — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 547
— — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 545
— — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 548
— — —, Gehalt an Volutin. 3
— — —, Gelatineplattenkultur. 547
— — —, Gelatinestichkultur. 548
— — —, Kartoffelscheibenkultur. 548
— — —, Keimstäbchen. 545
— — —, Keimung. 545
— — —. Möhrenscheibenkultur. 548
— — —, Speciesmerkmale. 549
— — —, Sporen. 544
— — —, Wachstum in Nährlösungen. 548
— amarificans s. Bacillus lactis Flügge.
— anthracis, Einfluß hohen Druckes auf die Virulenz. 309
— asterosporus, Gehalt an Volutin. 3
— aureus s. Bacillus lacticola A. M. et Neide.
— Beijerinckii, Einfluß auf die Hefegärung. 116
— Berestnewi n. sp. Lepeschkin, Biologie. 644
— — — —, Morphologie. 643
— — — —, Verzweigung u. Mycelbildung. 641. 645
— brassicae fermentatae, Einfluß auf d. Hefegärung durch Säurebildung. 117
— Buchneri, Einfluß auf d. Hefegärung durch Säurebildung. 117
— butyricus s. Bacillus lacticola A. M. et Neide.
— — s. Bac. sphaericus A. M. et Neide.
— carotarum, Gehalt an Volutin. 3
— cereus Frankland s. Bacillus robur A. M. et Neide.
— coccoideus s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— cohaerens, Beziehung zu Bacillus teres A. M. et Neide. 167
— —, Gehalt an Volutin. 3
— coli communis, Einfluß hohen Druckes auf d. Gärkraft. 309
— — —, Erreger der Käseblähung. 101
— cyanogenus, Gehalt an Volutin. 3
Bacillus cylindrosporus s. Bacillus lactis Flügge.
— Delbrücki Leichmann, Verhalten in Milch. 328
— denitrificans II s. Bac. Stutzeri.
— denitrofluorescens n. sp. Iterson, Anhäufung. 110
— egregius, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
— Ellenbachensis, Beziehung zu Bac. robur. 24
— —, Gehalt an Volutin. 3
— erythrosporus, Zersetzung von Würze. 290
— fluorescens liquefaciens, Produktion von Lipase. 395
— — —, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 390
— fusiformis, Beziehung zum Bacillus sphaericus A. M. et Neide. 543
— fusiformis, Gehalt an Volutin. 3
— geniculatus s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— Globigii s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— goniosporus s. Bacillus lacticola A. M. et Neide.
Bacillus gracilis s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
— granulobacter, Glykogengehalt. 53
— graveolens, Gehalt an Volutin. 3
— Hayducki, Wirkung auf die Hefegärung durch Säurebildung. 117
— Hessii Guillebeau (Kruse) s. Bacillus silvaticus A. M. et Neide.
— janthinus, Vorkommen im Boden. 460
— icteroides, Wirkung auf die H_2O_2-Reaktion gekochter Milch. 518
— intermedius s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— lacteus s. Bacillus lacticola A. M. et Neide.
— lacticola A. M. et Neide, Abtötungszeit der Sporen. 3
— — — — —, Agarstichkultur. 171
— — — — —, Agarstrichkultur. 171
— — — — —, Beweglichkeit. 170
— — — — —, Beziehung zum Bac. lactis Flügge. 175
— — — — —, Beziehungen zum Bac. Pestasites. 174
— — — — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 171
— — — — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 169
— — — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 172
— — — — —, Gehalt an Volutin. 4
— — — — —, Gelatineplattenkultur. 171
— — — — —, Gelatinestichkultur. 172

Bacillus lacticola A. M. et Neide, Kartoffelscheibenkultur. 172
— — — —, Keimstäbchen. 169
— — — —, Keimung. 169
— — — —, Möhrenscheibenkultur. 172
— — — —, Speciesmerkmale. 175
— — — —, Sporen. 169
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 173
— lactis s. Bacillus lacticola A. M. et Neide.
— — acidi, Bedeutung f. d. Käsereifungsprozeß. 275
— — aërogenes, Glykogengehalt. 53
— — albus s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— — Flügge, Abtötungszeit d. Sporen. 3
— — —, Agarstichkultur. 341
— — —, Agarstrichkultur. 340
— — —, Beweglichkeit 340
— — —, Beziehung zum Bacillus lacticola A. M. et Neide. 175
— — —, Beziehung zum Bacillus Petasites. 343
— — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 340
— — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 339
— — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 342
— — —, Gehalt an Volutin. 4
— — —, Gelatineplattenkultur. 341
— — —, Gelatinestichkultur. 341
— — —, Kartoffelscheibenkultur. 341
— — —, Keimstäbchen. 338
— — —, Keimung. 338
— — —, Möhrenscheibenkultur. 341
— — —, Speciesmerkmale. 343
— — —, Sporen. 338
— — —, Wachstum in Nährlösungen. 342
— — — X s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— laevis s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— Leichmanni I, II, III, Einfluß auf d. Hefegärung. 116
— der Leinröste, Wirkung auf Leinstengel. 35
— leptodermis s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— leptosporus s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— Listeri, Einfluß auf d. Hefegärung. 116
— lutulentus s. Bacillus lactis Flügge.
— Maerckeri, Einfluß auf die Hefegärung. 116
— megatherium, Beziehung zu Bac. silvaticus A. M. et Neide. 30
— —, Glykogengehalt. 53
— —, Struktur u. Sporenbildung. 573
Bacillus megatherium, Vorkommen auf Keimpflanzen. 710
— — de Bary s. Bacillus megatherium Heinze.
— — (De Bary), Vorkommen an Samen und Früchten. 613
— — Heinze, Beweglichkeit. 14
— — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 13
— — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 17
— — —, Keimstäbchen. 12
— — —, Keimung der Sporen. 12
— — —, Speciesmerkmale. 18
— — —, Sporen. 11
— — —, Wachstum auf Agar ohne Dextrose. 15
— — —, Wachstum in Nährlösungen. 17
— mesentericus (Flügge) L. et N., Vorkommen auf Pflanzen. 605
— — ruber s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— methylicus, Zersetzung der Ameisensäure. 176
— mycoides, Beziehung zu Bacillus robur. 24
— —, Gehalt an Volutin. 3
— nitrogenus Migula s. Bacterium Stutzeri.
— nobilis, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 98. 102. 274
— oleae (Arc.), Morphologie. 217
— omnivorus v. Hall auf Iris-Arten. 508
— panis fermentati, Einfluß auf d. Hefegärung durch Säurebildung. 117
— parvus A. M. et Neide, Agarstichkultur. 346
— — — —, Agarstrichkultur. 346
— — — —, Beweglichkeit. 346
— — — —, Beziehung zu Bacillus pumilis. 349
— — — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 346
— — — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 345
— — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 348
— — — —, Gelatineplattenkultur. 347
— — — —, Gelatinestichkultur. 347
— — — —, Kartoffelscheibenkultur. 347
— — — —, Keimstäbchen. 345
— — — —, Keimung. 344
— — — —, Möhrenscheibenkultur. 347
— — — —, Speciesmerkmale. 349
— — — —, Sporen. 344
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 348
— der Pektingärung, Wirkung auf Leinstengel. 35

Bacillus Petasites, Beziehung zum Bacillus lacticola A. M. et Neide. 174
— —, Beziehung zum Bacillus lactis Flügge. 343
— —, Beziehung zu Bacillus silvaticus A. M. et Neide. 31
— —, Gehalt an Volutin. 3
— pneumoniae crouposae, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— prodigiosus, Einfluß hohen Druckes auf die Pigmentbildung. 309
— pseudodiphtheriae, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— pseudotetani s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
— pseudotuberculosis, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— pumilis, Beziehung zu Bac. parvus A. M. et Neide. 349
— —, Gehalt an Volutin. 3
— putrificus, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 82
— —, Wirkung auf Kasein. 84
— — coli s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
— pyocyaneus, Verarbeitung von Glykogen. 186
— —, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— — β, Wirkung auf die H_2O_2-Reaktion gekochter Milch. 518
— robur, Beziehungen zu Bac. Ellenbachensis und Bac. mycoides. 24
— —, Gehalt an Volutin. 4
— —, Glykogenbildung. 5
— — α, im Waldboden gefunden, Wachstum. 24
— — A. M. et Neide, Beweglichkeit. 20
— — — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 21
— — — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 19
— — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 22
— — — —, Gelatinestichkultur. 22
— — — —, Kartoffelscheibenkultur. 22
— — — —, Keimstäbchen. 19
— — — —, Speciesmerkmale. 25
— — — —, Sporen. 18
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 23
— rubellus, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
— ruminatus, Gehalt an Volutin. 3
— sessilis s. Bacillus megatherium Heinze.
— silvaticus A. M. et Neide, Beweglichkeit. 27
— — — —, Beziehung zu Bac. megatherium. 30
— — — —, Beziehung zu Bac. Petasites. 31
Bacillus silvaticus A. M. et Neide, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 28
— — — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 27
— — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 29
— — — —, Keimstäbchen. 26
— — — —, Keimung. 26
— —, morpholog. Veränderungen auf Agar ohne Dextrose. 5
— — A. M. et Neide, Speciesmerkmale. 32
— — — —, Sporen. 25
— — — —, Wachtsum auf Gelatine. 29
— — — —, Wachstum auf Kartoffel. 29
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 30
— simplex, Gehalt an Volutin. 3
— sphaericus A. M. et Neide, Agarstichkultur. 540
— — — —, Agarstrichkultur. 539
— — — —, Beweglichkeit. 539
— — — —, Beziehung zum Bacillus alvei Krompecher. 549
— — — —, Beziehung zum Bacillus fusiformis. 543
— — — —, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 352. 539
— — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 541
— —, Gehalt an Volutin. 4
— — A. M. et Neide, Gelatineplattenkultur. 540
— — — —, Gelatinestichkultur. 540
— — — —, Kartoffelscheibenkultur. 541
— — — —, Keimstäbchen. 352
— — — —, Keimung. 351
— — — —, Möhrenscheibenkultur. 541
— — — —, Speciesmerkmale. 544
— — — —, Sporen. 350
— — — —, Wachstum auf Agar ohne Dextrose. 539
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 541
— subtilis, Gehalt an Volutin. 3
— —, Glykogengehalt. 53
— tabificans n. sp. Delacroix, Ursache der Gelblaubigkeit der Zuckerrübe. 323
— tenuis (Duclaux) Mig. s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
— teres A. M. et Neide, Agarstichkultur. 165
— — — —, Agarstrichkultur. 165
— — — —, Beweglichkeit. 164
— — — —, Beziehung zu Bacillus cohaerens. 167
— — — —, Entwickelungsgang auf Agar ohne Dextrose. 164

Bacillus teres A. M. et Neide, Entwickelungsgang auf Dextroseagar. 163
— — — —, Entwickelungsgang in Nährlösungen. 166
— — — —, Gelatineplattenkultur. 165
— — — —, Gelatinestichkultur. 165
— — — —, Kartoffelscheibenkultur. 166
— — — —, Keimstäbchen. 162
— — — —, Keimung. 162
— — — —, morpholog. Veränderung auf Agar ohne Dextrose. 5
— — — —, Speciesmerkmale. 168
— — — —, Sporen. 162
— — — —, Wachstum in Nährlösungen. 166
— thalassophilus s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
— thermophilus IV Rabinow., Vorkommen in Grabenwasser. 354
— — radiatus n. sp. Catterina, Vorkommen in Grabenwasser. 355
— tuberculosis hominis, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— tumescens, Gehalt an Volutin. 3
— turgescens, Zersetzung von Würze. 290
— typhi abdominalis, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— — murium, Einfluß hohen Druckes auf die Virulenz. 309
— vulgatus (Flügge) Migula, Vorkommen auf Pflanzen. 605
— vulpinus n. sp. Iterson, Anhäufung. 111
— — — —, Pigmentbildung. 111
— Wehmeri, Einfluß auf die Hefegärung durch Säurebildung. 117
— Wortmanni, Einfluß auf die Hefegärung. 116
— der Cellulosegärung, Wirkung auf Leinstengel. 35
Bacterium agile, Verarbeitung von Glykogen. 186
— anthracoides s. Bacillus megatherium Heinze.
— brassicae s. Bacillus megatherium Heinze.
— coeruleum, Zersetzung v. Würze. 290
— coli, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— — (Escherich) L. et N., Vorkommen auf Pflanzen. 605
— — commune, Ursache der Käseblähung. 89
— comes n. sp. Bersteyn, Begleiter der Nitratbildner. 493
— debile n. sp. Bersteyn, Begleiter der Nitratbildner. 493
— enteritidis, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
Bacterium faecal. alcal., Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— filiforme (Tils) Mig. s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— flexile Burchard, s. Bacillus megatherium Heinze.
— fluorescens, Vorkommen auf Keimpflanzen. 702
— — (Flügge) L. et N., Vorkommen auf Pflanzen. 604
— — — — — —, Vorkommen an Samen und Früchten. 613
— — liquefaciens, Vorkommen in Bier. 291
— fuscum Flügge I, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
— gliscrogenum, Wirkung auf Würze. 291
— Güntheri - Form, Schleimbildner, Morphologie und Biologie. 383
— — —, Schleimbildung, Beziehung zum Bacterium lactis longi Troili-Peters. 386
— — —, Schleimbildung im Käse. 192. 371
— — —, Ursache des Fadenziehens der Milch. 372
— helicosum, Wirkung auf Würze. 291
— herbicola aureum, Vorkommen auf Gerste. 607
— — —, Vorkommen auf Keimpflanzen. 702
— — —, Vorkommen auf Pflanzen. 604
— — —, Vorkommen an Samen und Früchten. 612
— — rubrum n. sp., Vorkommen auf Pflanzen. 605
— hirtum s. Bacillus megatherium. Heinze.
— janthinum, Zersetzung von Würze. 290
— lactis longi Troli-Peters., Beziehung zum schleimbildenden Bacterium Güntheri. 386
— — viscosum, Wirkung auf Würze. 291
— minutissimum, Zersetzung v. Würze. 290
— modestum n. sp. Bersteyn, Begleiter der Nitratbildner. 493
— Pansinii s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— paratyphi, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— prodigiosum, Zersetzung von Würze. 290
— proteus vulgare, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— — —, Wirkung auf Würze. 291
— pseudanthracis s. Bacillus megatherium Heinze.

Bacterium putidum, Vorkommen auf Keimpflanzen. 710
— — (Flügge) L. et N., Vorkommen auf Pflanzen. 605
— pyocyaneum, Wirkung auf Würze. 290
— ranicida, Vorkommen in Bier. 291
— sessile (Klein) Mig. s. Bacillus megatherium Heinze.
— setosum, Wirkung auf Würze. 291
— tomentosum s. Bacillus teres A. M. et Neide.
— typhi, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— —, Lebensfähigkeit im Biere. 291
— vernicosum, Wirkung auf Würze. 291
— violaceum, Zersetzung v. Würze. 290
— viscosum, Wirkung auf Würze. 291
Bactridium caesium n. sp. Höhnel, auf Erlen- und Buchenrinde. 132
Bakterien, Bedingung der Farbstoffbildung. 466
—, Beziehung zur Haus- und Landwirtschaft, Gewerbe- und Gesundheitspflege. 465
—, Boden-, Behandlung mit Schwefelkohlenstoff. 126
—, denitrifizierende, Anhäufungsversuche. 106
—, Einfluß hoher Drucke. 309
—, Einwirkung auf Zuckerarten. 397
—, Eisen-, Vorkommen. 681
—, Knöllchen-, Impfversuche. 497
—, Milchsäure-, Gelatine verflüssigend. 587
—, nitrifizierende, günstige Wirkung der Bodendurchlüftung. 496
— —, Lebensbedingungen. 494
—, Nitro-, Begleitmikroorganismen. 493
—, Säuerung der Milch. 593
—, sporenbildende, Beschreibung. 1. 161. 337. 539
—, symbiotische, Struktur und Sporenbildung. 559
—, Tätigkeit im Boden. 126
—, termophile, Vorkommen in Grabenwasser. 353
—, Ursache der Käseblähung. 89
—, Ursache des Wachstums d. Gerste. 500
—, Verteilung im Granakäse. 78
—, Wachstum in konzentrierten Salzlösungen. 467
—, aus Wasser isoliert, Einfluß auf Würze und Bier. 290
—, Wirkung auf Kasein. 590
—, Zellkern. 469
Bakterienflora von Samen und Keimpflänzchen. 602. 695
Bakterienlicht, Photographieen. 310
Basidiomyzeten, Glykogengehalt. 53
Battareopsis Artini nov. gen. et sp. P. Hennings, Vorkommen unter dem Fußboden. 513
Baumwolle s. Gossypium.
Bdella, Schädling der Kokospalme. 319
Beizversuche gegen Hirsebrand. 331
Beloniella osiliensis Vesterg. auf Thalictrum. 139
Betriebskontrolle, biologische, Atlas. 310
Bier, Beeinflussung durch aus Wasser isolierte Bakterien. 290
Blähung im Edamerkäse, durch ein Bacterium verursacht 89
Blastotrichum elegans n. sp. Höhnel, auf faulem Stroh. 133
Blattbräune der Kartoffel, Ursache. 321
Blattfallkrankheit der Rebe, Bekämpfung. 150
Blattläuse, Schädlinge der Sorghumpflanze. 142
Blei, Wirkung auf die Gärung. 94
Boden, bakteriologische Studien. 304
—, bakteriologische Untersuchung. 126
—, chemische Studien. 304
—, Ursache der Selbstreinigung. 112
Bodenbakterien, Behandlung mit Schwefelkohlenstoff. 126
—, Einfluß der Brache. 130
—, Tätigkeit. 126
Bodenuntersuchung, bakteriologische Methodik. 262
Boletus edulis, Glykogengehalt. 53
Botrytis capsularum Bres. et Vesterg., auf Veronica aquatica. 139
— pruinosa n. sp. Höhnel auf Holz im Wienerwald. 132
Brache, Einfluß auf die Bodenbakterien. 126
Brand der Olive, Ursache. 744
Brandkrankheiten des Getreides, Bekämpfung. 330
Branntwein, Entstehung von Fuselöl. 487
Brassica fruticulosa, Gallenbildung. 325
— Rapa, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 437. 614
Brauereien, amerikanische, Ursache dort vorkommender Infektionen. 487
Brauprozeß, Rolle der Enzyme. 471
Bronze, Wirkung auf die Gärung. 94
Brunnissure des Rebstockes, Ursache. 323
Brusca, Olivenkrankheit, Ursache. 744
Brusone, Feuerkrankheit des Reises, Ursache. 144
Buchsbaumblatt, Frostflecke. 256
Büchelersches Verfahren z. Herstellung von Kunsthefe. 518
Butter, Ursache der Zersetzungen in Büchsen. 388. 597
—, verpackte, Keimzahl von Bakterien und Hefen. 391

Buttersäurebakterien, Bedeutung für d. Käsereifungsprozeß. 82
—, Granulosegehalt. 53

Caeoma exitiosum n. sp. Sydow auf Rosa pimpinellifolia. 140
Calosphaeria Cinchonae n. sp. Zimmermann auf Cinchona. 316
Capsella bursa pastoris, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 238
— — —, — durch Peronospora parasitica. 242
— Heegeri, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 427
Carex verna, Gallenbildung. 325
Cecidomyide, auf Geranium striatum, Gallenbildung. 326
— auf Vinca major, Gallenbildung. 326
—, Gallenbildung. 325
Ceratocladium microsporium Corda, Morphologie, Systematik. 133
Cercospora, Systematik. 134
— Batatae n. sp. Zimmermann auf Ipomoea Batatas. 316
— Coffeae n. sp. Zimmermann auf Coffea-Arten. 316
— Herrerana n. sp. Fameti, Ursache einer Kaffeekrankheit. 744
— Isopyri n. sp. Höhnel auf Isopyrum thalictroides. 133
— Kellermani Bubák, Vorkommen in Ohio. 141
— Sesami n. sp. Zimmermann auf Sesamum indicum. 316
— Sorghi auf Andropogon Sorghum. 315
Cercosporella ulmicola n. sp. Höhnel auf Ulmus. 133
Chaerophyllum temulum, Gallenbildung. 325
Chaetomella atra var. bambusina auf Bambusa viridiflavescens. 140
Chaetomium papillosum n. sp. Cocconi, Morphologie u. Fortpflanzung. 739
Chalara, Systematik. 134
— aeruginosa n. sp. Höhnel auf Gleditschia triacantha. 133
— sanguinea n. sp. Höhnel auf Gleditschia triacantha. 133
Chlamydothrix (Gallionella) ferruginea (Ehrbg.) Mig., Vorkommen. 692
Chlorbaryum, Anwendung gegen schädliche Insekten. 520
Chlorella protothecoides Beijerinck, Verarbeitung von Glykogen. 186
— —, Glykogenbildung. 56
Chrysomyxa Menziesiae n. sp. Dietel auf Menziesia pentandra. 507
Cinchona, durch Helopeltis gefährdet. 316
Cinchona, Wirt von Calosphaeria, Pestalozzia und Nectria-Arten. 316
— Ledgeriana, durch Sphinx nerii geschädigt. 316
— succirubra, durch Sphinx nerii geschädigt. 316
Cladosporium butyri, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 390
— herbarum, Glykogengehalt. 53
Clasterosporium carpophilum, Ursache des Gummiflusses der Obstbäume. 636
Claviceps purpurea, Glykogengehalt. 52
Claviceps-Art auf Pennisetum spicatum. 315
Cleonus punctiventris, Schädling der Zuckerrübe. 747
Clitocybe nebularis, Glykogengehalt. 52
Clonostachys, Systematik. 134
— Pseudobotrytis n. sp. Höhnel auf faulem Holze. 132
Clonothrix fusca n. g. n. sp. Schorler. Morphologie und Vorkommen. 689
Coffea, durch Tylenchus Coffeae und T. acutocaudatus geschädigt. 316
— arabica, Krankheit, verursacht durch Cercospora Hewerana. 744
— -Arten, Wirte von Cercospora Coffeae n. sp. Zimmermann. 316
Colletotrichum Andropogonis n. sp. Zimmermann auf Andropogon Sorghum. 315
— versicolor n. sp. Saccardo auf Bambusa-Stämmen. 141
—, Systematik. 134
Collodochium atroviolaceum n. gen. et spec. Höhnel auf faulem Holze. 131
Coniophora cerebella, Vorkommen in Gebäuden. 513
Coniothyrium Oleae n. sp. Pollacci, Beziehung zum Olivenbrande. 744
Contarinia Linariae, Gallenbildung. 325
Coprinus niveus, Glykogengehalt. 52
— radians, Vorkommen in Gebäuden. 513
Corticium giganteum, Vorkommen in Gebäuden. 513
Coryne sarcoides (Jacqu.), Kritik. 133
Coryneum Mori n. sp. Nohmura, Parasit des Maulbeerbaumes. 744
Crenothrix manganifera Jackson, Beziehung zu Crenothrix polyspora Cohn. 684
— polyspora Cohn, Verhalten und Vorkommen. 682
Cristularia s. Botrytis pruinosa.
Cronartium-Arten, Verteilung auf ihren Nährpflanzen. 225
Cryptocoryneum fasciculatum Fuckel, Systematik. 134
Cryptovalsa ampelina Fuck. s. Cryptovalsa protracta.

Cryptovalsa ampelina (Nke.) auf Weinranken. 139
— arundinacea Sacc. auf Arundo Donax und Zea Mays. 139
— Citri Catt. auf Citrus Limonum. 139
— citricola (Ell. et Ev.) Berl. auf Citrus Aurantium. 139
— Clematidis s. Allescherina Clematidis.
— Coryli Vogl. auf Corylus-Zweigen. 139
— crotonicola s. Allescherina crotonicola.
— depressa (Fr.) Sacc. auf Carpinus-Zweigen. 139
— effusa v. Allescherina effusa. 138
— elevata (Berk.) Sacc. auf Evonymus und Ficus carica. 139
— eutypaeformis s. Allescherina eutypaeformis.
— exigua (Wint.) Berl. auf Salix-Zweigen. 138
— microsperma (Sacc.) Berl. auf Holz. 138
— Nitschkei Fuck. s. Cryptovalsa protracta. 139
— platensis Speg. auf Salix-Zweigen. 139
— prominens (Howe) Berl. auf Lonicera japonica. 138
— protracta (Pers.) Ces. et de Not. auf Laubbäumen. 139
— Pruni Fuck. auf Prunus spinosa. 139
— pustulata Ell. et Ev. auf Lonicera und Symphoricarpus vulgaris. 139
— Rabenhorstii (Nke.) Sacc. auf Laubbäumen. 139
— — var. entypelloides Sacc. auf Rhamnus-Zweigen. 139
— — var. Rosarum Sacc. auf Rosa-Zweigen. 139
— — var. subendoxyla Sacc. auf Celtis australis. 139
— Rubi s. Allescherina Rubi.
— Sassafras (Ell. et Ev.) Berl. auf Laurus Sassafras. 138
— sparsa s. Allescherina sparsa.
— tenella s. Allescherina tenella.
— Terebinthi s. Allescherina Terebinthi.
— uberrima (Tul.) Sacc. auf Lindenästen. 139
Cylindrosporium auf Ilex furcata. 744
Cystopus candidus, Infektionsversuche. 622. 714
— — Lév., Parasit der Kruziferen. 235. 426. 614. 713
— — (Pers.) Lév. auf Thlaspi praecox Wulf. 140
— —, Ursache von Gewebsveränderungen bei Arabis alpina. 430
Cystopus candidus, Ursache von Gewebsveränderungen bei Brassica Rapa. 437. 614
— —, — — — bei Capsella bursa pastoris. 238
— —, — — — bei Capsella Heegeri. 427
— —, — — — bei Diplotaxis tenuifolia. 615
— —, — — — bei Lepidium sativum. 431
— —, — — — bei Raphanus Raphanistrum. 618
— —, — — — bei Sinapis arvensis. 618
Cytospora Grossulariae n. sp. Laubert, Morphologie. 407
Cytosporina Ribis n. sp. P. Magnus, Ursache des Absterbens der Johannis- und Stachelbeerstöcke. 320

Darluca Sorghi n. sp. Zimmermann auf Andropogon Sorghi. 315
Dasyscypha Heimerlii n. sp. Höhnel auf faulem Carpinus-Holze. 132
Deegeria funebris Mg., Parasit der Haltica ampelophaga. 150
Dematium, Zellkern. 476
— -Hefe, Glykogenbildung. 56
— — Verarbeitung von Glykogen. 186
— -Schimmel, Glykogenbildung. 56
— —, Verarbeitung von Glykogen. 184
Dendrophoma fusipora n. sp. Höhnel auf Prunus Padus. 132
Denitrifikation, Einfluß der Düngung. 308
— und Nitrifikation, Zusammenwirkung. 111
—, Untersuchungsmethodik. 263. 448
—, Wesen der. 107
Desinfektionsmittel, Wirkung auf Mikroorganismen in Gärbottichen. 115
Dialonectria amaniana s. Nectria amaniana.
Diaspites, Systematik. 147
Diastase, Abtötung der, Einfluß auf den Endvergärungsgrad. 479
—, Malz-, Wirkung auf Kartoffelkleister. 474
Diatrypella citricola Ell. et Ev. s. Cryptovalsa citricola.
— deusta s. Allescherina deusta.
— exigua s. Cryptovalsa exigua.
— microsperma s. Cryptovalsa microsperma.
— prominens s. Cryptovalsa prominens.
— Sassafras s. Cryptovalsa Sassafras.
Didymosphaeria Stellariae n. sp. Höhnel auf Stellaria nemorum. 132
Diestrammena unicolor, Schädling des Pyrethrum. 513
Dinkelsteinbrand, Bekämpfung. 331

Diplodia (Gossypii n. sp.?) auf Gossypium. 316
— palmicola var. Sabaleos auf Sabal glaucescens. 140
Diplorhinotrichum candidum n. gen. et sp. Höhnel auf faulem Holze. 131
Diplosis Centaureae, Gallenbildung. 325
Diplotaxis tenuifolia, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 615
Discula Dianthi n. sp. P. Magnus auf Dianthus Kotschyanus. 141
Doaspausia Rhinanti Lagerheim, Systematik. 133
Dorycnium herbaceum, Gallenbildung. 325
Dothichiza Coronillae n. sp. Höhnel auf Coronilla Emeri. 132
— populea Sacc. et Briard auf Pappeln. 119
Dothidea noxia n. sp. Ruhland, Eichenschädling. 250
Draba muralis, Gallenbildung. 325
Druck, hoher, Einfluß auf Mikroorganismen. 309
Düngung s. Gründüngung.
—, Einfluß auf Nitrifikation, Denitrifikation und Fäulniskraft der Bodenbakterien. 304
Dürrfleckigkeit der Kartoffel, Ursache. 321
Dufoursche Lösung zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen. 330

Eiche, Wirt von Dothidea noxia n. sp. Ruhland. 250
Eisen, Wirkung auf die Gärung. 94
Eisenbakterien, Vorkommen. 681
Elektrizitätsausgleichung, Ursache der Gipfeldürre der Fichten. 317
Eleutheromyces longisporus Phill. et Plowr. s. Rhynchonectria longispora (Phill. et Plowr.) Höhnel. 133
— subulatus (Tode), Systematik. 133
Endomyces albicans, Zellkern. 476
Endvergärungsgrad, Einfluß von Maischtemperatur und Maischverfahren. 479
Entomocecidium auf Asparagus acutifolius, Gallenbildung. 326
Entomophthora radicans Bref., Feind der Grapholitha tedella Cl. 517
Entyloma Bellidis W. Krieg., Vorkommen im Litoralgebiete und Istrien. 140
— Leucanthemi n. sp. Sydow auf Chrysanthemum Leucanthemum. 140
— Schweinfurthii n. sp. P. Hennings auf Polypogon monspeliensis. 513
Enzym der Milch, lipolytisches, Rolle bei der Butterzersetzung. 599
—, oxydierendes, der Kuh- und Frauenmilch. 489
Enzym, proteolytisches, im Malz. 472
Enzyme, Empfindlichkeit gegen Alkohol und Säuren. 124
—, lipolytische, Vorkommen in Butter. 393
— der Milch, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 280
—, Rolle im Brauprozeß. 471
—, Wesen und Wirkung. 471
Epichloë typhina (Perl.) Tul., Schädlichkeit für das Vieh. 750
Epicoccum, Systematik. 134
Epidochium Xylariae n. sp. Höhnel auf Xylaria polymorpha. 132
Erblichkeit bei einzelligen Organismen. 641
Erdschimmel, Verarbeitung von Glykogen. 185
Erineum Menthae, Gallenbildung. 325
Eriophyes auf Dianthus monspessulanus, Gallenbildung. 326
— auf Satureja Calamintha, Gallenbildung. 326
—, Gallenbildung. 325
— Nyssae n. sp. Trotter auf Nyssa silvatica, Gallenbildung. 327
Eriophyide auf Epimedium alpinum, Gallenbildung. 326
— auf Serratula tinctoria, Gallenbildung. 326
— auf Specularia Speculum, Gallenbildung. 326
— auf Teucrium Chamaedrys, Gallenbildung. 326
Erysiphe aceris, Glykogengehalt. 53
— graminis, Parasitismus. 503
— Martii Lév. auf Rotklee. 750
Essigbakterien in Gärbottichen, Wirkung der Desinfizientien. 115
Essigbacterium, Einfluß auf die Hefegärung. 117
Essigbildung, Rolle der Enzyme. 484
Essigpilz, Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol und Essigsäure. 485
Euchlaena mexicana, Wirt von Helminthosporium Euchlaenae n. sp. Zimmermann. 315
Euparlatoria banksiae, Morphologie. 147
— calianthina, Morphologie. 147
— cingula, Morphologie. 147
— myrtus, Morphologie. 147
— parlatoriae, Morphologie. 147
— pergandei, Morphologie. 147
— proteus, Morphologie. 147
— theae, Morphologie. 147
Euproctis chrysorrhoea L., Verbreitung. 145
Evernia prunastri, Glykogengehalt. 53
Exoascus deformans, metachromatische Körperchen. 478
Exosporium biformatum n. sp. Höhnel auf Buchenholz. 132

Fadenziehen der Milch, verursacht durch eine Bacterium Güntheri-Form. 372
Fäulnisbakterien, Stickstoffgärung. 492
Fäulniskraft der Bodenbakterien, Einfluß der Düngung. 306
Farbstoffbildung bei Bakterien, Bedingungen. 466
Faßgeläger, Reinzüchtung von Bierhefe. 475
Feldmaus, Schädling des Getreides und der Zuckerrübe. 508
Fermente, Einfluß von Oxydationsmitteln. 519
— als Ursache des Umschlagens des Weines. 488
—, Wesen und Wirkung. 471
Feuerkrankheit des Reises, Erreger. 144
Fichte, Gipfeldürre, Ursache. 317
—, Schädlinge. 515
Flüssigkeit, Sterilisieren. 152
Formaldehydlösung zur Bekämpfung des Hirsebrandes. 332
Frauenmilch s. Milch.
Frostblasen an Aprikosenblättern, Gewebsveränderung. 253
Frostflecken an Buchsbaumblättern, Gewebsveränderung. 256
Fruchtätherbildung bei der alkoholischen Gärung. 480
Fusarium osiliense Bres. et Vesterg. auf Briza media. 139
Fuselöl, Entstehung im Branntweine. 487
Fusicoccum macrosporium Sacc. et Briard, Entwickelungskreis. 133
Fusionen, Bildung bei Uredineen. 742

Gäraroma, durch Zymase gebildet. 482
Gärbottiche, Wirkung der Desinfektionsmittel. 115
Gärung s. Vergärung.
— abgetöteter Hefe. 400
— alkoholische, chemische Vorgänge. 474
— —, Entstehung des Glycerins. 574
— —, Fruchtätherbildung. 480
—, Einfluß von Oxydationsmitteln. 519
— von Flüssigkeiten, Einfluß der Metalle. 93
— der Hefe, Einfluß von Milchsäurebacillen. 116
— von Rohrzucker und Malzzucker bei hoher Konzentration. 119
—, Stickstoff-, durch Fäulnisbakterien. 492
— verschiedener Hefearten in Rollkulturen. 649
Gärungskunde, Atlas der mikroskopischen Grundlagen. 310
Galaktase, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 99
Gallen, Vorkommen in Italien. 325
—, Vorkommen in Nord-Amerika. 327
Gallen, Vorkommen in Spanien. 326
Gallenbildung. 325
Gallionella ferruginea s. Chlamydothrix ferruginea (Ehrbg.) Mig.
Gasentwickelung des Erregers der Käseblähung. 90
Gaswechsel s. Atmung.
— abgetöteter Hefe (Zymin) auf verschiedenen Substraten. 205
— des Zymins. 402
Gelatineverflüssigung durch Milchsäurebakterien. 587
Gelblaubigkeit der Zuckerrübe, Ursache. 323
Geranium lucidum, Gallenbildung. 325
Gerste, Bakterien als Ursache des Wachstums. 500
Getreide, geschädigt durch die Feldmaus. 508
Getreidebrandkrankheiten, Bekämpfung. 330
Getreideflugbrand, Bekämpfung. 331
Getreidemaische, Einfluß von Milchsäurebacillen auf die Gärung. 116
Gifte, Anpassung der Schimmelpilze. 135
Gipfeldürre der Fichten, verursacht durch elektrische Ausgleichungen. 317
Glas, Wirkung auf die Gärung. 94
Gleosporium Theae n. sp. Zimmermann auf Thea. 316
Gliobotrys alboviridis n. gen. et spec. Höhnel auf Acer pseudoplatanus. 131
Gliocephalis hyalina Matruchot, Systematik. 134
Gloiosphaera Clerciana (Boudrier) Höhnel, Morphologie. 131
— globuligera n. gen. et spec. Höhnel s. Gloiosphaera Clerciana (Boudrier) Höhnel.
Gloniopsis larigna Lamb. et Fautrey = Hysteropsis larigna (Lamb. et F.). 135
— — — —, Kritik. 133
Glukose, Einwirkung des Sonnenlichtes. 292
Glycerin, Entstehung bei der alkoholischen Gärung. 574
Glykogen, Abbau. 358
—, Bedeutung für die Gärungsgewerbe. 360
—, Bedeutung für die Stickstoffassimilationsvorgänge. 363
—, Bedeutung als Stoffwechselprodukt. 190. 355
—, Bildung durch pflanzliche Organismen. 43. 177. 355
—, chemische Eigenschaften. 49. 51. 73
—, Eigenschaften. 50
—, Gewinnung. 48
—, Gewinnung aus Pilzen. 66
—, Hydrolisierung durch Pilze. 178
—, mikrochemischer Nachweis. 63

Glykogen, physikalische Eigenschaften. 72
—, quantitative Bestimmung. 71
—, Spaltung durch Mikroorganismen. 76. 177
—, Verarbeitung durch niedere Organismen, Spaltungsprodukte. 187
—, Vorkommen im Eiter. 359
—, Vorkommen im Pflanzenreiche. 46. 52
—, Vorkommen in Pilzen. 47. 54
—, Vorkommen im Tierreiche. 44
—, Wiederverarbeitung durch niedere Organismen. 75
—, Wiederverarbeitung durch pflanzliche Organismen. 43. 177. 355
Gold, Wirkung auf die Gärung. 94
Gossypium, Wirt von Alternaria macrospora n. sp. Zimmermann. 316
—, Wirt von Diplodia (Gossypii n. sp.?) 316
—, Wirt von Phyllosticta gossypina Ell. und M. 316
—, Wurzelkrankheit durch Neocosmospora vasinfecta verursacht. 316
Granakäse, Verteilung der Bakterien. 78
Granulobacter butylicum, Ursache der Entstehung von Fuselöl im Branntweine. 488
Granulosebakterien, Glykogenbildung. 53
Grapholitha pactolana, Beziehung zur Gipfeldürre der Fichten. 318
— —, Fichtenschädling. 517
— tedella Cl., Fichtenschädling. 517
Gründüngung, Wirkung auf schwerem Boden. 499
Gummifluß der Obstbäume, Ursache. 636
Gymnaspis aechmeae, Morphologie. 147
— bullata, Morphologie. 147
— perpusilla, Morphologie. 147
Gymnoascus, Klassifikation. 502

Haltica ampelophaga, Wirt von Zicrona, Perilitus und Degeeria. 150
Harnstoffzersetzung, Untersuchungsmethodik. 452
Hartgummi, Wirkung auf die Gärung. 94
Hartkäse, Reifungsprozeß. 82
Hausschwamm s. Merulius lacrimans.
Hefe s. Saccharomyces.
— abgetötete, Atmung und Gärung. 400
— — (Zymin), Gaswechsel. 205
—, anatomischer Bau der Kahmhaut. 300
—, Bestandteile. 478
—, Beziehung zur Haus- und Landwirtschaft, Gewerbe und Gesundheitspflege. 465
—, Bier-, Reinzucht aus Faßgeläger. 475
Hefe, Einfluß hohen Druckes auf die Gärkraft. 309
—, Gärung und Atmung. 649
— getrocknete, Lebensdauer. 311
—, Glykogenbildung. 58
—, Kunst-, Herstellung nach Bücheler-schem Verfahren. 518
—, Milchzucker vergärende, Kultur neuer Rassen. 312
—, Obstwein-, Morphologie. 486
— Türkheim, Verarbeitung von Glykogen. 186
— untergärige, anatomischer Bau der Riesenkolonieen. 299
— —, Wachstumsform der Riesenkolonieen. 294
—, Verhalten gegen hohen Druck. 309
—, Zellkern. 476
Hefeinvertin s. Invertin.
Hefekatalase, Eigenschaften. 473
Helicosporium ambiens (Morgan) s. Helicostilbe scandens (Morgan).
— helicina n. gen. et sp. Höhnel s. Helicostilbe scandens (Morgan).
— scandens (Morgan) Höhnel auf Carpinusholz. 131
Helminthosporium Euchlaenae n. sp. Zimmermnnn auf Euchlaena mexicana. 315
Helopeltis, Gefahr für Cinchona. 316
—, Gefahr für Piper capense. 315
—, Gefahr für Thea. 316
—, Schädling der Bixa orellana. 316
—, Schädling des Kakaos. 316
Hendersonia Dianthi n. sp. P. Magnus auf Dianthus fimbriatus. 141
— Donacis form. bambusina auf Bambusstengeln. 141
— Magnoliae form. Chimonanthi auf Chimonanthus fragrans. 141
Heu, Selbsterhitzung. 675
Hippocrepis comosa, Gallenbildung. 325
Hirsebrand, Beizversuche. 331
Holz bewohnende Schwämme, Auftreten in Gebäuden. 513
Humaria subsemiimmersa n. sp. Höhnel im Boden. 132
Humusstoffe, Umwandlung durch Organismen. 357
Hyalopeziza ciliata Fuckel, Systematik. 133
Hyalospora Adianthi-capilli-veneris (DC.) n. sp. Sydow, Vorkommen am Isonzo. 140
Hylobius abietis, Kiefernschädling, Bekämpfung. 515
Hylurgus ligniperda, Kiefernschädling. 515
Hymenopodium sarcopodioides Corda, Systematik. 134
Hypericum perfoliatum, Gallenbildung. 325

Hypochaeris aethnensis, Gallenbildung. 325
Hypochnus chaetophorus n. sp. Höhnel auf faulem Lärchenholze. 132
Hypocrea Sacchari, Beziehung der Verticillium-Form zu Serehkrankheit. 507
Hypomyces galericola n. sp. P. Hennings auf Galera rubiginosa. 513
Hystriopsis laricina n. sp. Höhnel auf Larix europaea. 132

Jaunisse s Gelblaubigkeit.
Insekten, Bekämpfung mit Chlorbaryum. 520
Invertase, Wesen und Wirkung. 473
Invertin, Hefe-, Beeinflussung durch konzentrierte Zuckerlösungen. 122
Ipomoea Batatas, Wirt von Cercospora Batatae n. sp. Zimmermann. 316
Iris florentina und germanica, befallen von Bacillus omnivorus v. Hall. 507
Isaria farinosa, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Istrien, Pilzflora. 139

Käse, s. Granakäse, Parmesankäse etc.
—, s. Hartkäse.
—, Edamer, Ursache der Blähung. 89
—, Reifungsprozeß. 97. 273
—, Schleimbildung verursacht durch einen Organismus aus der Gruppe Bacterium Güntheri. 192. 371
Kaffee, s. Coffea.
Kahmhautbildung der Hefe, anatomisch. Bau. 300
Kahmhefen in Gärbottichen, Wirkung der Desinfizientien. 115
Kakao s. Theobroma Cacao.
Kakifrucht, Spaltung des Tannins durch Oxydasen. 315
Kalium, salpetersaures, Einfluß auf die Käseblähung. 92
—, Wirkung auf die Pilzentwickelung. 144
Kalk, doppeltschwefligsaurer, als Desinfektionsmittel. 115
Kalkmilch als Desinfektionsmittel. 115
Kalkstickstoff, Gewinnung und Verwendung. 495
Kartoffel, Ursache der Blattbräune (Dürrfleckigkeit). 321
Kartoffelkleister, Wirkung von Malzdiastase. 474
Kartoffelwasser, neuer Nährboden für gärungsphysiol. Arbeiten. 293
Kasein, Wirkung von Bakterien. 590
Katalase der Hefe, Eigenschaften. 473
Keimpflänzchen, Bakterienflora. 602. 695
Keimung der Sporen bei Saccharomyces Ludwigii. 478
Kiefer, beschädigt durch wurzelbrütende Hylesinen. 515
Kiefernschütte, Bekämpfung. 151
—, Ursache. 743
Kiefferia musae n. gen. et spec. Kunstler u. Chaine, Morphologie u. Biologie, s. Micropsocus musae. 514
Klee, Schädigung des Samens durch Alternaria tenuis. 511
Knöllchenbakterien, Leguminosen-, Impfversuche. 497
—, Vermittler der Stickstoffaufnahme der Leguminosen 498
Kohl, Ursache der Schwarzfäule. 725
Kohlehydrate, Einfluß auf d. Entwickelung von Schimmelpilzen. 554. 656
—, Einwirkung von Bakterien. 397
Kokospalme, Schädlinge. 319
Krebs des Apfelbaumes, Ursache. 509
— der Obstbäume, Ursache. 632
—, Tannen-, Bekämpfung. 319
Krustenschimmel, weißer, Verarbeitung von Glykogen. 185
Kuhmilch s. Milch.
Kunsthefe, Herstellung. 518
Kunstlab s. Lab.
Kupfer, Wirkung auf d. Gärung. 94
Kupferbrühe zur Bekämpfung d. Blattfallkrankeit d. Rebe. 151
Kupferpräparate zur Bekämpfung des Hirsebrandes. 331
— zur Bekämpfung der Kiefernschütte. 151
Lab, Natur-, Kunst-, Bedeutung f. den Käsereifungsprozeß. 275
Laktase, Empfindlichkeit gegen Alkohol und Säuren. 124
Lamium flexuosum, Gallenbildung. 325
Lasionectria Cinchonae s. Nectria Cinchonae. 316
Lasioptera, Gallenbildung. 325
Lathyrus venetus, Gallenbildung. 325
Lebensdauer getrockneter Hefe. 311
Leguminosen, Stickstoffbindung mittels Knöllchenbakterien. 498
— -Knöllchenbakterien (Nitragin), Impfversuche. 497
Leinstengel, Veränderungen unter Mikrobenwirkung. 33
Lentinus squamosus, Vorkommen in Gebäuden. 513
Lenzites sepiaria, Vorkommen in Gebäuden. 513
Lepidium sativum, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 431
Lepidonectria coffeicola s. Nectria coffeicola.
Leptothyrium Genistae n. sp. Höhnel auf Genista hispanica. 132
— Magnoliae n. sp. Saccardo auf Magnolia grandiflora 141
Leuchtgas, vegetationsschädlich. 327
Libertiella lignicola n. sp. Höhnel auf faulem Buchenholze. 132

Linaria purpurea, Gallenbildung. 325
Lipase, Vorkommen in der Butter. 394
Litoral-Gebiet, Pilzflora. 139
Lophodermium pinastri, Erreger der Nadelschütte der Ave. 317
— —, Parasitismus. 743
Lupine, günstige Wirkung der Impfung mit Nitragin. 497
Lusitanien, Pilzflora. 140
Luzerne, Schädigung des Samens durch Alternaria tenuis. 511
Lyda hypotrophica Htg., Fichtenschädling. 516
— stellata Chr., Bekämpfung. 149

Macrolabis corrugans, Gallenbildung. 325
Macrophoma Ariae n. sp. Höhnel am Schneeberg (N.-Oesterr.) 132
— Ensetes n. sp. Saccardo auf Musa Ensete. 140
Macrosporium sarcinaeforme Cav. auf Rotklee. 751
Mafuta-Krankheit der Sorghumpflanzen, Ursache. 142
Maischtemperatur, Einfluß auf d. Endvergärungsgrad. 479
Maischverfahren, Einfluß auf d. Endvergärungsgrad. 479
Malz, proteolytisches Enzym. 472
Malzdiastase, Wirkung auf Kartoffelkleister. 474
Malzzucker, Vergärung bei hoher Konzentration. 119
Mandarine, Alternaria tenuis als Ursache der Schwarzfleckigkeit. 510
Manihot, Wirt von Septogloeum Manihotis A. Z. 315
Massospora, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Maulbeerbaum s. Morus nigra.
Meerrettich, Ursache des Schwarzwerdens. 510
Melampsora Lini (DC.) Tul. auf Linum corymbulosum Rchb. 140
— -Arten, Verteilung auf ihren Nährpflanzen. 226
Melampsorella Caryophyllacearum (DC.) Schröt., Infektionsversuche. 422
— Feurichii n. sp. P. Magnus auf Asplenium septentrionale. 503
— Symphyti (DC.) Bubák, Infektion von Abies und Picea. 423
Melanconium didymoideum Vesterg. auf Alnus incana. 139
Melilotus albus, Wirt von Ascochyta caulicola n. sp. Laubert. 137
Mentha silvestris, Gallenbildung. 325
Merulius aureus, Vorkommen in Gebäuden. 513
— hydnoides, Vorkommen in Gebäuden. 513
Merulius lacrimans, Keimungsbedingungen. 511. 512
— —, Vorkommen in Gebäuden. 513
Mesobotrys flavovirens n. sp. Höhnel auf faulem Holze 133
Messing, Wirkung auf die Gärung. 94
Metalle, Einfluß auf gärende Flüssigkeiten. 93
Micrococcus, Vorkommen in konzentrierten Salzlösungen. 468
— agilis, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— candicans, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 101
— phosphoreus, Lichterzeugung. 310
Microdiplodia Medicaginis n. sp. Diedicke auf Medicago sativa. 507
Micropsocus musae, Morphologie, s. Kiefferia musae. 514
Micropuccinia, s. Puccinia Adoxae DC.
Mikroorganismen, Einfluß hoher Drucke. 309
Milben, Schädlinge der Kokospalme. 319
Milch, Abbau der Eiweißkörper durch Schimmelpilze. 493
—, Bestimmung des Milchzuckers. 328
—, Fadenziehen, verursacht durch eine Bacterium Güntheri-Form. 372
—, Frauen-, Reaktion des oxydierenden Enzymes. 92
—, gekochte, Reaktion mit H_2O_2. 518
—, Kuh-, Reaktionen des oxydierenden Enzymes. 489
—, Nachweis von Alkohol. 329
—, pasteurisierte, Bakteriengehalt. 440
—, —, Schaum- und Häutchenbildung als Hindernis der Bakterientötung. 446
—, —, Unreinheit d. Flaschen als Ursache des Bakteriengehaltes 445
—, —, Bakterienansiedelung auf dem Verschlußgummiring. 443
—, Sauerwerden durch Bakterien. 593
Milchagar zur Untersuchung proteolytischer Enzyme. 590
Milchsäure, Einfluß auf den Käseblähungserreger. 91
—, Wirkung auf Enzyme. 125
Milchsäurebakterien, Bedeutung für d. Käsereifungsprozeß. 98
—, Gelatine verflüssigend. 587
—, Verarbeitung von Glykogen. 186
Milchsäurebacillen, hemmender Einfluß auf die Hefegärung. 116
—, wilde, in Gärbottichen, Wirkung der Desinfizientien. 115
Milchzucker, Bestimmung in d. Milch durch Polarisation u. Reduktion. 328
—, Rolle bei der Käsereifung. 285
— vergärende Hefe, Kultur neuer Rassen. 312
Mimikryfälle zwischen Lepidoptereneiern

und Gallen von Harmandia globuli. 325
Monilia candidaa, Zellkern. 476
— Linhartiana auf Prunus Padus. 119
— sitophila, Einfluß verschied. Kohlehydrate auf d. Entwickelung. 557
Monospora cuspidata, Morphologie. 536
Morus nigra, Wirt von Coryneum und Tuberculina. 744
Mucor cambodja, Einfluß verschiedener Kohlehydrate a. d. Entwickelung. 557
— dubius, Einfluß verschied. Kohlehydrate auf d. Entwickelung. 557
— jawanicus, Einfluß verschied. Kohlehydrate auf d. Entwickelung. 556
— mucedo, Abbau der Eiweißkörper der Milch. 493
— —, Einfluß von Kohlehydraten auf die Atmung. 558
— Rouxii, Einfluß verschied. Kohlehydrate auf die Entwickelung. 556
— stolonifer. Gewöhnung an Gifte. 135
— —, Verarbeitung von Glykogen. 185
Mucoraceen, Glykogengehalt. 53
Mycoderma, Zellkern. 476
Mycosphaerella hypostomatica n. sp. Höhnel auf Luzula-Blättern. 132
Mytilaspidee, Systematik. 147
Mytilaspis fulva auf Citrus limonum, aurantiaca, bigaradia. 145
Myzus asclepiadis auf Nerium Oleander. 145
Nadelschütte der Arve, verursacht durch Lophodermium pinastri. 317
Nährboden, neuer, für gärungsphysiologische Arbeiten. 293
Nährsubstrate, Einfluß auf die Eigenschaften der Bakterien. 4
Naeviella s. Phragmonaevia.
Naturlab s. Lab.
Nectria amaniana n. sp. Zimmermann auf Cinchona. 316
— Cinchonae n. sp. Zimmermann auf Cinchona. 316
— coffeicola A. Z. auf Cinchona. 316
— ditissima, Beziehung zum Krebs der Obstbäume. 636
— tricolor n. sp. Höhnel auf faulem Tannenholze. 131
Nelken, durch Aelchen geschädigt. 326
Nematospora Coryli, Morphologie. 536
Nematus abietinus Chr. (Abietum Htg.), Fichtenschädling. 516
Neocosmospora vasinfecta auf der Wurzel der Baumwolle. 316
Neorhemia ceratophora n. gen. et sp. Höhnel auf faulem Holze. 130
Neuroterus, Gallenbildung. 325
— auf Quercus Cerris, Gallenbildung. 326
Neusilber, Wirkung auf die Gärung. 94
Nickel, Wirkung auf d. Gärung. 94
Nitragin s. Leguminosen, Knöllchenbakterien.
Nitrifikation und Denitrifikation, Zusammenwirkung. 111
—, Einfluß der Düngung. 306
—, Untersuchungsmethodik. 453
Nitrobakterien, Untersuchung ihrer Begleitmikroorganismen. 493

Obstbaum, Ursache der Gummikrankheit. 636
—, Ursache des Krebses. 632
Obstweinhefen, Morphologie. 486
Odontia subtilis Fr., Drüsenorgane. 133
Oesel, Insel, Pilzflora. 139
Oidium lactis, Abbau der Eiweißkörper der Milch. 493
— —, Glykogengehalt. 53
— —, Produktion von Lipase. 395
— —, Ursache des Ranzigwerdens der Butter. 390
— —, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— —, Zellkern. 476
Olea europaea, Tuberkulose verursacht durch Bacillus oleae (Arc.). 217
Olive, Ursache des Brandes. 744
Oospora destructrix Delacroix, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Opalina intestinalis, metachromatische Körperchen. 477
Ophiobolus carneus n. sp. Höhnel auf Staphylea pinnata. 132
Orient, Pilzflora. 141
Oscillarien, Symbiose mit Azotobacter. 267
Otidea leporina, Oelkügelchen. 478
Ovularia Bornmülleriana n. sp. P. Magnus auf Onobrychis Tournefortii. 141
— farinosa Bon. s. Ramularia farinosa.
— Lolii n. sp. Volk. auf Lolium. 751
— necans (Pass.) auf Cydonia. 119
Ovulariopsis moricola n. sp. Delacroix auf Morus alba. 118
Oxalsäurebildung aus Glykogen durch Aspergillus niger. 181
Oxydationsmittel, Einfluß auf Gärungsvorgänge. 519

Paraplectrum foetidum, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 98
Parlatoria, Systematik. 147
— pergandei, Morphologie. 147
Parmesankäse, Verteilung der Bakterien. 78
Paxillus acheruntius, Vorkommen in Gebäuden. 513
Pedilospora parasitans n. gen. et sp. Höhnel auf Helotium-Fruchtkörpern. 131
Penicillium, Klassifikation. 501

Penicillium glaucum, Abbau der Eiweißkörper der Milch. 493
— —, Gewöhnung an Gifte. 135
— —, Verarbeitung von Glykogen. 185
— Wortmanni n. sp. Klöcker, Ascusbildung 501
Pennisetum spicatum, Wirt von Puccinia Penniseti n. sp. Zimmermann. 315
Peptonzersetzung durch Bodenbakterien, Einfluß der Düngung. 306
—, Untersuchungsmethodik. 450
Peridermium Holwagi n. sp. Sydow auf Pseudotsuga Douglasii. 742
Perilitus brevicollis, Parasit der Haltica ampelophaga. 150
Periplaneta orientalis, symbiotische Bakterien. 559
Peronospora cubensis Beck. et Curt. auf Melonenblättern. 744
— — var. atra. A. Z. auf Gurkenblättern. 316
— parasitica, Ursache von Gewebsveränderungen bei Capsella bursa pastoris. 242
— trifoliorum de By. auf Rotklee. 750
— viticola de By., Bekämpfung. 150
Perrisia similis, Gallenbildung. 325
Pestalozzia Cinchonae n. sp. Zimmermann auf Cinchona. 316
— palmarum auf der Kokospalme. 320
Peziza Antonii Roumeguère, Kritik. 133
— (Humaria) Antonii (Roumeg.) Rehm = Ascophanus testaceus (Morg.). 135
— coccinea, metachromatische Körperchen. 478
— tuberosa, Vorkommen metrachromatischer Körperchen. 737
— venosa, Vorkommen metachromatischer Körperchen. 737
Pflanzenkrankheiten, tropische, Erreger. 315
—, Universalmittel. 150
Pflanzenschädlinge, Bekämpfung mittels Dufourscher Lösung. 330
Phallus impudicus, Glykogengehalt. 52
Phialea atro-sanguinea, Ursache der blutroten Fäule der Laubhölzer. 133
Phleospora Angelicae n. sp. Höhnel auf Angelica sylvestris. 132
— Jaapiana P. Mag., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien 140
— parcissima n. sp. Höhnel auf der Roßkastanie. 132
Phoma betae, Verarbeitung von Glykogen. 185
— Campanemae n. sp. Saccardo auf Arikuryroba Campanemae. 141
— niphonia n. sp. Nohmura, Parasit des Maulbeerbaumes. 744
— pachytheca Vestergr. auf Salixzweigen. 139
— Rossiana auf Lupinus albus. 502
Photographieen im Bakterienlichte. 310
Phragmidium heterosporum n. sp. Dietel auf Rubus trifidus. 507
— Ivesiae n. sp. Sydow auf Ivesia unguiculata, 740
Phragmonaevia ebulicola n. sp. Höhnel, Vorkommen in Nieder-Oesterreich. 132
Phyllosticta Ballotae n. sp. Diedicke auf Ballota nigra. 507
— Epipactidis n. sp. Diedicke auf Epipactis violacea. 507
— Gelsemii var. nov. Mandevilleae auf Mandevillea suaveolens. 140
— gossypina Ell. u. M. auf Gossypium. 316
— michauxioides n. sp. P. Magnus auf Campanula michauxioides. 141
— Pleurospermi n. sp. Diedicke auf Pleurospermum austriacum. 507
Phytophthora infestans in der Kartoffelknolle. 119
Pichia E. Chr. Hansen, Systematik. 538
— membranaefaciens s. Saccharomyces membranaefaciens.
Pilz, gelbgrünlicher, Verarbeitung von Glykogen. 186
Pilze, Vorkommen im Reichenberger Bezirk. 738
Pilzflora der Insel Oesel. 139
— von Istrien. 139
— des Litoralgebietes. 139
— Lusitaniens. 140
— des Orients. 141
Piricularia Oryzae Briosii e Cav., Erreger der Feuerkrankheit des Reises. 144
Pirobasidium sacroides (Jacqu.) als status conidiophorus Corynes sacroides. 131
Plectridium palludosum s. Bacillus sphaericus A. M. et Neide.
Pleospora Alternariae Griff. et Gib. auf Luzernen- und Kleesamen. 511
Pluteus roseipes n. sp. Höhnel, Vorkommen Puchberge (Nieder-Oesterreich). 132
Polycinetis aethiops Grav., Feind von Lyda hypotrophica Htg. 516
Polygonum romanum, Gallenbildung. 325
Polyporus hispidus, Bekämpfung. 152
— igniarius, Bekämpfung. 152
— sulphureus, Bekämpfung. 152
— vaporarius, Vorkommen in Gebäuden. 513
Pontania vesicatrix, Gallenbildung. 325
Prototheca Beijerinckii, Glykogenbildung 56
— —, Verarbeitung von Glykogen. 186
— Zopfii, Glykogengehalt. 55

Pseudodiplodia Lonicerae n. sp. auf Lonicera tatarica. 132
Pseudomonas campestris, Biologie. 730
— —, Ursache der Schwarzfäule des Kohls. 726
— fluorescens exitiosus v. Hall auf Irisarten. 508
— humicola n. sp. Bersteyn, Begleiter der Nitratbildner. 493
— Iridis v. Hall auf Irisarten. 508
— syncyanea, Gehalt an Volutin. 3
Pseudoperonospora Cubensis (Berk. et Curt.) Tweriensis, Vorkommen auf Gurkenfeldern. 520
Pseudopeziza Trifolii Fuck. auf Luzerne. 750
Pseudozythia pusilla n. gen. et sp. Höhnel auf vermodertem Holze. 131
Psilura monacha L., Verbreitung in den Vereinigten Staaten. 145
Puccina Acanthospermi n. sp. Sydow auf Acanthospermium Xanthioides. 741
— Adoxae, Infektion von Adoxa moschatellina. 418
— aequatoriensis n. sp. Sydow auf Marsdenia 740
— albescens (Grev.) Plowright, Infektion von Adoxa moschatellina. 417
— Alyssii Syd. auf Alyssum halmifolium. 741
— andropogonis Schw., Pyknidenbildung auf Pentastemon hirsutus. 506
— augustata Peck, Aecidienbildung auf Lycopus americanus. 506
— annularis (Str.) Wint. auf Teucrium flavum L. 140
— argentata (Schultz) Winter, Wirtswechsel. 412
— Asparagi-lucidi n. sp. Dietel auf Asparagus lucidus. 507
— Asperulae cynanchicae Wurth, Infektionsversuche. 714
— — Fuckel s. Puccinia Asperulae cynanchicae Wurth.
— Atkinsoniana Diet., Pykniden- und Aecidienbildung auf Sambucus canadensis. 505
— Baryi (Berk. et Br.), Infektionsversuche. 421
— bithynica n. sp. P. Magnus auf Salvia grandiflora. 141
— bolleyana Sacc., Pykniden- und Aecidienbildung auf Sambucus canadensis. 505
— bromina Erikss., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Calycerae Syd. = Puccinia Calycerae Speg.
— Cardui-pycnocephali Syd., Vorkommen im Litoralgebiet und in Istrien. 140
Puccina caricis-erigerontis Arth., Aecidienbildung auf Leptilon canadense. 506
— caricis montanae E. Fischer, Infektion von Carex-Arten. 421
— — (Schum.) Reb., Aecidienbildung auf Urtica gracilis. 505
— — solidaginis Arth., Aecidienbildung auf Solidago canadensis. 506
— caulicola Tr. et Gall., Beziehung zu Aecidium caulicolum. 506
— Celakovskyana Bubák, Infektions- und Kulturversuche. 713
— Centaureae D. C., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— cirsii-lanceolati Schroet., Aecidienbildung auf Cirsium lanceolatum. 506
— coronata Corda auf Wiesenschwingel. 750
— Cynoctoni Lév. auf Cynoctonum bulligerum. 740
— extensicola Plowr., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Franseriae n. sp. Sydow auf Franseria ambrosioidis. 740
— Galii (Pers.), Infektions- und Kulturversuche. 713
— Gayophyti (Vize) Peck auf Gayophytum diffusum. 740
— Gerardiae Syd. auf Gerardia tenuifolia. 741
— helianthi Schw., Pykniden- und Aecidienbildung auf Helianthus mollis und annuius. 506
— hibisciata, Infektionsversuche. 506
— istriaca Syd., Vorkommen in Istrien. 140
— lactucina s. Puccinia Opizii Bubák.
— lateripes Berk. et Rav., Beziehung zu Aecidium lateripes Kellerm. 506
— — — — auf Ruellia strepens. 505
— longissima Schroeter, Infektion von Sedum boloniense. 419
— Maydis auf Zea Mays. 315
— Menthae Pers. auf Mentha mollissima Borkh. 140
— Muhlenbergiae Arth., Beziehung zu Aecidium hibisciatum. 505
— Opizii Bubák, Infektionsversuche. 420
— pallens Syd. = Pucc. pallida Mass. auf Orthosiphon. 742
— peckii (de Toni) Kellerm., Pykniden- und Aecidienbildung auf Onagra biennis. 505
— Penniseti n. sp. Zimmermann auf Pennisetum spicatum. 315
— punctata Link, Infektion von Galium-Arten. 421
— purpurea Cooke auf Andropogon Sorghi. 315

Puccina purpurea, Ursache der Sorghumpflanzenkrankheit. 142
— Pyrethri Rabh., Infektion von Artemisia-Arten. 422
— Romagnoliana n. sp. Maire et Saccardo auf Cyperus longus. 502
— sejuncta n. sp. Sydow auf Hieracium albiflorum. 740
— Sesleriae Reich, Infektionsversuche. 420
— silvatica Schroet., Infektion von Carex digitata. 420
— simplex (Körn.), Infektionsversuche. 420
— sphaerospora n. sp. Syd. et P. Henn. auf Metastilma Schlechtendalii. 740
— splendens Vize = Puccinia notabilis Tracy et Earle. 740
— subdecora n. sp. Syd. et Holw. auf Brickellia grandiflora. 741
— subnitens Diet., Aecidienbildung auf Chenopodium album. 506
— Tassadiae Syd. auf Tassadia comosa 740
— Teucrii Biv. auf Teucrium Polium L. 140
— — —, Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— tinctoriicola P. Magn., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Toumeyi Syd., Diagnose. 741
— triticina Eriks., Infektionsversuche. 421
— windsorii Schw., Pykniden- und Aecidienbildung auf Ptelea trifoliata. 506
— -Arten, Verteilung auf ihren Nährpflanzen. 227
Pucciniastrum Boehmeriae (Diet.) Syd. auf Boehmeria biloba. 742
— Kusanoi n. sp. Dietel auf Clethra barbinervis. 507
Pyrenophora Pestalozzae n. sp. P. Magnus auf Alsine Pestalozzae. 141
Pyronema confluens, Vorkommen metachromatischer Körperchen. 737

Quercus Suber, Gallenbildung. 325

Ramularia Anchusae, Morphologie und Systematik. 134
— Cardui Personatae n. sp. Höhnel auf Carduus. 133
— cylindroides Sacc., Vorkommen, Systematik. 134
— (Ovularia) farinosa (Bon), Vorkommen, Systematik. 134
— Lampsanae (Desm.) Sacc., Morphologie. 134
— Phyllostictae michauxioides n. sp. P. Magnus auf Campanula michauxioides. 141
— submodesta n. sp. Höhnel auf Agrimonia Eupatoria. 132
Ramularia Vestergreniana Allesch auf Levisticum officinale. 139
Raphanus Raphanistrum, Gallenbildung. 325
— —, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 618
— sativus, Gallenbildung. 325
Rauch, vegetationsschädlich. 327
Ravenelia aculeifera Berk. auf Mezoneuron enneaphyllum. 740
— macrocarpa n. sp. Sydow auf Cassia bicapsularis 740
— papillifera n. sp. Sydow auf Cassia Lindheimeriana. 740
— Schweinfurthii n. sp. Sydow auf Entada sudanica. 740
— Usambarae n. sp. Sydow auf Cassia goratensis. 740
— verrucosa Cke. et Ell. auf Leucaena. 740
Razoumofskya tsugensis n. sp. Rosendahl auf Tsuga heterophylla Sarg. 138
Rebe, Bekämpfung der Blattfallkrankheit. 150
—, Ursache der „brunissure“. 322
Reifungsprozeß des Käses. 97. 273
— der Hartkäse, Bedeutung der Buttersäurebacillen. 82
Reis, Erreger der Feuerkrankheit. 144
Rhabdospora aloetica n. sp. Saccardo auf Aloe-Stämmen. 141
— campanulae-Cervicariae Vesterg. auf Campanula Cervicaria. 139
— nigrella form. Acnidae auf Acnida cannabina. 141
Rhaphidia media Burm., Larve, Feind des Borkenkäfers. 148
Rhizoporus oryzae, Einfluß verschiedener Kohlehydrate auf die Entwickelung. 557
Rhopalomyia Tamaricis n. sp. Stefani-Perez auf Tamarix gallica, Gallenbildung. 146
Rhynchomyces exilis n. sp. Höhnel auf nacktem Kiefernholze. 132
Rhynchonectria longispora (Phill. et Plowr.) Höhnel, Morphologie. 131
Ribes-Stöcke, Ursache des Absterbens. 320
Riesenkolonie der Hefe, diagnostisches Merkmal. 295
Roestelia solenoides n. sp. Dietel auf Pirus Aria var. kamaonensis. 507
Roggenstengelbrand, Bekämpfung. 331
Rohrzucker, Vergärung bei hoher Konzentration. 119
Rosahefe s. Torula rosea.
Rostkrankheit der Sorghumpflanzen, Ursache. 142
Rostpilze, Wirtswechsel. 504
Rußtaupilze, Ursache der Sorghumpflanzenkrankheit. 142
Saccharobacillus pastorianus, Einfluß auf

die Hefegärung durch Säurebildung. 117
Saccharobacillus pastorianus var. berolinensis, Einfluß auf d. Hefegärung durch Säurebildung. 117
Saccharomyces, Einwirkung auf Zuckerarten. 397
—, Zellkern. 476
— anomalus, Morphologie, Systematik. 533
— apiculatus, Gaswechsel des Zymins. 406
— —, Zellkern. 476
— cerevisiae, Gärung u. Atmung. 650
— —, Glykogengehalt. 53
— — I Hansen, Gaswechsel und Gärung des Zymins. 403
— ellipsoideus II, Glykogengehalt. 53
— farinosus Lindner, Systematik. 538
— guttulatus, Morphologie, Systematik. 535
— hyalosporus Lindner, Systematik. 538
— lactis, Glykogengehalt. 53
— Ludwigii, Morphologie, Systematik. 532
— — (Hansen), Sporenkeimung. 478
— membranaefaciens, Gaswechsel des Zymins. 405
— —, Morphologie, Systematik. 531
— Meyen, Systematik. 537
— Saturnus, Morphologie, Systematik. 535
Saccharomycesarten, Morphologie. 486
Saccharomycodes E. Chr. Hansen, Systematik. 537
Saccharomycopsis capsularis, Morphologie, Systematik. 535
— guttulatus s. Saccharomyces guttulatus.
Saccharomyzeten, Systematik. 529
Säure, Wirkung auf Enzyme. 124
Säurebildung durch Bakterien. 117
Salicylsäure, Zersetzung durch Schimmelpilze. 501
Salix arbuscula, Gallenbildung. 325
Salpeterbakterien, Lebensbedingungen. 494
Salzsäure als Desinfektionsmittel. 116
—, vegetationsschädlich. 327
Samen, Bakterienflora. 602. 695
San-José-Schildlaus, Bekämpfung. 145
Sarcina rosea, Einfluß hohen Druckes auf die Pigmentbildung. 309
Sarcinastämme, Einfluß auf Würze und Bier. 290
Sauerwerden der Milch durch Bakterien. 593
Schädlinge der Kokospalme im Bismarkarchipel. 319
— in New-York, Bekämpfung. 145
— der Pflanzen, Bekämpfung. 330
— der Zuckerrübe. 745
Schildlaus, Katalog d. Schildlausarten. 146
—, Schädling der Kokospalme. 319
Schimmelpilze, Accommodationsfähigkeit gegenüber Giften. 135
—, Einfluß von Kohlehydraten auf die Entwickelung. 554. 656
—, Vorkommen auf Pflanzen. 605
—, Zersetzung von Salicylsäure. 501
Schizosaccharomyces, Ascusbildung. 478
— mellacei, Zellkern. 476
— octosporus, Ascusbildung. 476
— —, Zellkern. 476
— Pombe, Gärung und Atmung. 652
— —, Gaswechsel und Gärung des Zymins. 404
— —, Morphologie, Systematik. 533
— —, Zellkern. 476
Schleimbildung im Käse durch einen Organism. aus d. Gruppe Bacterium Güntheri. 192. 371
Schnallen, Bildung bei Uredineen. 742
Schüttelpilz s. Lophodermium Pinastri.
Schwämme, Baum-, Bekämpfung. 152
—, holzbewohnende, Auftreten in Gebäuden. 513
Schwarzfäule des Kohls, Ursache. 725
Schwarzwerden des Meerrettichs, Ursache. 510
Schwefeldioxyd, vegetationsschädlich. 327
Schwefelkohlenstoff, Einfluß auf die Bodenbakterien. 128
—, Einfluß auf die Wurzelflora. 129
Schwefelsäure als Desinfektionsmittel. 116
—, vegetationsschädlich. 327
—, Wirkung auf Enzyme. 125
Sclerotinia Ariae n. sp. Schellenberg auf Sorbus Aria. 735
— Hordei n. sp. Schellenberg auf Gerste. 735
— sclerotiorium Libert, Glykogengehalt. 54
Selbsterhitzung des Heues, Wesen. 675
Selbstreinigung des Bodens etc., Ursache. 112
Septogloeum Arachidis Rac. auf Arachis hypogaea. 315
— Manihotis A. Z. auf Manihot-Arten. 315
— Tremulae n. sp. Höhnel auf Populus tremula. 132
Septoria Bupleuri-falcati n. sp. Diedicke auf Bupleurum falcatum. 507
— Caricis-montanae Vesterg. auf Carex montana. 139
— Catalpae var. folliculorum auf Asclepias verticillata. 141
— Galeobdoli n. sp. Diedicke auf Galeobdolon luteum. 507

Septoria Galiorum form. Rubiae auf Rubia peregrina. 141
— Halleriae n. sp. Saccardo auf Halleria lucida. 141
— Lagerstroemiae n. sp. Saccardo auf Lagerstroemia indica. 141
— Oleae n. sp. Polacci, Beziehung zum Olivenbrande. 744
— semicircularis n. sp. Saccardo auf Evonymus fimbriatus. 141
Septotrullula bacilligera n. gen. et sp. Höhnel auf Rinde. 131
— peridemalis n. gen. et sp. Höhnel auf Rinde. 131
Serehkrankheit des Zuckerrohres, Ursache. 507
Serradella, günstige Wirkung der Impfung mit Nitragin. 497
Serratula tinctoria, Gallenbildung. 325
Sesamum indicum, Wirt von Cercospora Sesami n. sp. Zimmermann. 316
Silber, Wirkung auf die Gärung. 94
Sinapis arvensis, Gewebsveränderungen durch Cystopus candidus. 618
Solanum tuberosum s. Kartoffel.
Sonnenlicht, Einwirkung auf Glukose. 292
Sorghumbohrer, Schädling d. Sorghumpflanzen. 143
Sorghumbrand, Ursache. 143
Sorgumhirse, Krankheiten. 142
Sorosporella uvella Giard., Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Spegazzinia, Systematik. 134
— calyptrospora n. sp. Höhnel auf Holz von Pinus silvestris. 133
Speira toruloides Corda, Systematik. 134
Sphaerioideen, Vorkommen in Thüringen. 507
Sphaerobolus sternatus, Glykogengehalt. 53
Sphaeronemella microsperma n. sp. Höhnel auf faulem Birkenholze. 132
Sphaeropsis malorum Peck, Erreger des Apfelkrebses. 509
— — —, Identität mit Diplodia pseudo-Diplodia Fuck. 119
— Molleriana n. sp. Saccardo auf Glycine violacea. 140
Sphinx nerii, Schädling von Cinchona succirubra und C. Ledgeriana. 316
Spirillum rubrum, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
— volutans, Gehalt an Volutin. 3
Spirillumarten, Vorkommen in Würze und Bier. 291
Sporen, Keimung, bei Saccharomyces Ludwigii. 478
Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. 559
Sporenentwickelung bei Aphanomyces. 502
Sporidesmium solani varians n. sp. Vaňha, Ursache der Blattbräune der Kartoffel. 322
Sporotrichum globuliferum, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Stagonospora innumerosa (Desm.) forma Junci Bufonii F. Fautrey = Stagonospora Bufonia. 134
— Trifolii Fautr. auf Weißklee. 751
— Typhoidearum Desm. = Ascochita Typhoidearum (Desm.). 134
Staphylococcus aureus, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— mastitis albus, Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 101
Sterigmatocystis nigra, Assimilation von Alkohol und Aldehyden. 486
— —, metachromatische Körperchen. 478
— —, teratologische Formen. 144
— pseudo-nigra, Morphologie und Biologie. 503
Sterilisieren von Flüssigkeiten. 152
Stichococcus bacillaris, metachromatische Körperchen. 477
Stickstoff, atmosphärischer, Nutzbarmachung. 495
Stickstoffassimilation im Boden, Einfluß der Temperatur. 462
—, Untersuchungsmethodik. 454
Stickstoffbereicherung des Bodens durch Gründüngung. 499
Stickstoffbindung der Leguminosen mittels Knöllchenbakterien. 498
— in sterilem Boden durch Algen. 500
Stickstoffgärung durch Fäulnisbakterien. 492
Stictis Panizzei de Not., Ursache des Olivenbrandes. 744
Stilbella pseudomortierella, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Streptococcus hollandicus, Einfluß auf die Käseblähung. 91
— —, Ursache der schleimigen Molken. 385
— sanguineus, Farbstoffbildung bei Sauerstoffabschluß. 466
Streptothrixarten, Einfluß d. Schwefelkohlenstoffes. 128
Stromatinia Linhartiana Prill et Del. s. Sclerotinia Cydoniae Schellenberg.
Struktur bei symbiotischen Bakterien. 559
Symbiose von Azotobacter mit Oscillarien. 267

Tätmjölk s. Zähmilch.
Tannenkrebs, Bekämpfung. 319
Tapesia atro-sanguinea s. Phialea atro-sanguinea.
Taphrina aurea, metachromatische Körperchen. 478
— Vestergrini Giesenh. auf Aspidium Filix mas. 139
Tee s. Thea.
Temperatur, Einfluß auf die Wachstumsform von Heferiesenkolonieen. 294
—, Maisch-, Einfluß auf den Endvergärungsgrad. 479
Tephritis, Gallenbildung. 325
— tristris Löw auf Phagnalon saxatilis und rupestris, Gallenbildung. 146
Tetranychopsis, Schädling der Kokospalme. 319
Tetranychus bioculatus, Schädling des Tees. 316
Thamnurgus Delphini Rosenh. auf Delphinium longipes, Gallenbildung. 146
Thea, durch Helopeltis gefährdet. 316
—, Wirt von Gleosporium Theae n. sp. Zimmermann. 316
—, Wirt von Tetranychus bioculatus. 316
Theobroma Cacao, durch Helopeltis geschädigt. 316
Thermobacterium album-Form, Vorkommen in Würze und Bier. 291
Thyrococcum Sacc., Systematik. 134
Tilletia Bornmülleri n. sp. P. Magnus auf Elymus crinitus. 141
Timaspis Helminthiae n. sp. Stefani-Perez auf Helminthia aculeata, Gallenbildung. 146
Tolyposporium, Ursache des Sorghumbrandes. 143
Tomicus Cembrae Heer, Lebensweise. 148
Torula, Zellkern. 476
— lactis Adametz, Glykogenbildung. 53
— nigra, Zellkern. 476
— rosea, Morphologie und Physiologie. 314
— T, Morphologie und Biologie. 396. 597
— —, Produktion eines lipolytischen Enzyms. 395
— —, Rolle bei der Butterzersetzung. 600
— —, Vorkommen in verpackter Butter. 392
— Tyrocola Beijerinck, Glykogenbildung. 53
Trichocollonema Acrotheca n. gen. et sp. Höhnel auf Tannenrinde. 131
Trifolium scabrum, Gallenbildung. 325
Tsuga heterophylla Sarg., Wirt von Razoumofskya tsugensis n. sp. Rosendahl. 138
Tuber aestivum brumale, Glykogengehalt. 52
— melanosporum, Oelkügelchen. 478
Tuberculina Nohmuriana n. sp. Sacc. auf Astragalus sinicus. 744
Tuberkulose der Olea europaea, erregt durch Bacillus oleae (Arc.) 217
Tylenchus acutocaudatus, Kaffeeschädling. 316
— coffeae, Kaffeeschädling. 316
— devastatrix, Schädling der Erbse, des Flachses und der Anemone japonica. 514
Tyrogen, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 103. 278
Tyrothrix tenuis s. Bacillus parvus A. M. et Neide.
Tyrothrixarten, Bedeutung für den Käsereifungsprozeß. 103. 274

Umschlagen des Weines, durch Fermente verursacht. 488
Unkraut, Vertilgung mittels Eisenvitriol. 520
Uredineen, Infektionsversuche. 411. 505. 506
—, Schnallen- und Fusionenbildung. 742
—, Verteilung auf ihren Nährpflanzen. 218
—, Vorkommen in Japan. 507
Uredinopsis americana n. sp. Sydow auf Onoclea sensibilis. 740
— Corchoropsidis n. sp. Dietel auf Corchoropsis crenata. 507
Uredo Adianti capilli Veneris (DC.), Zugehörigkeit zu Melampsorella. 503
— Anthephorae n. sp. Sydow auf Antephora elegans. 742
— balaensis n. sp. Sydow auf Blechnum Brownei. 742
— Cassiae glaucae n. sp. Sydow auf Cassia glauca. 740
— — stipularis n. sp. Sydow auf Cassia stipularis. 740
— Courtoisiae n. sp. Sydow auf Courtoisia cyperoides. 742
— danthoniae n. sp. P. Hennings auf Danthonia Forskalii. 513
— Gaudichaudii n. sp. Sydow auf Blainvillea rhomboidea. 742
— hyalina n. sp. Dietel auf Carex stenantha. 507
— murariae n. sp. P. Magnus auf Asplenium Ruta muraria. 503
— nidulans Syd. auf Dalbergia foliosa. 741

Uredo Opheliae n. sp. Sydow auf Swertia angustifolia. 742
— Panacis Syd. auf Panax pseudoginseng. 742
— Peckoltiae Syd. auf Peckoltia pedalis. 741
— Plucheae n. sp. Sydow auf Pluchea camphorata. 741
— Setariae-italicae n. sp. Dietel auf Setaria italica und S. viridis. 507
— Socotrae n. sp. Sydow auf Cassia Sophora. 741
Urocystis Anemones (Pers.) Schroet., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
Uromyces Anthyllidis (Grev.) Schroet., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Astragali (Opiz), Infektion von Astragalus glycyphyllus. 422
— crassivertex n. sp. Dietel auf Lychnis Miqueliana. 507
— cynosuroides n. sp. P. Hennings auf Eragrostis cynosuroides. 513
— Deeringiae n. sp. Sydow auf Deeringia indica. 739
— Fabae (Pers.), Infektion von Vicia Faba. 422
— — — De Bary, Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— induratus n. sp. Sydow auf Diplíptera. 741
— Limonii (DC.) Lév., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Microchloae n. sp. Sydow auf Microchloa setacea. 741
— Phyteumatum (DC.) Ung., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
— Poae Rabh., Infektionsversuche. 422
— Pseudarthriae Cke. auf Pseudarthria Hookeri. 740
— trigonellae occultae n. sp. P. Hennings auf Trigonella occulta. 513
Uromycesarten, Verteilung auf ihren Nährpflanzen. 230
Urophlyctis Alfalfae (Lgh.) Magn. auf Luzerne. 751
Ustilagineen, Zersetzung von Salicylsäure. 501
Ustilago, Zellkern. 476
— Crameri auf Setaria germanica, Mohar. 331
— Mitchellii n. sp. Sydow auf Iseilema Mitchellii. 742
— Panici miliacei auf Panicum miliaceum. 332
— phrygica n. sp. P. Magnus auf Elymus crinitus. 141
— tuberculiformis n. sp. Sydow auf Polygonum runcinatum. 742
Ustilagoarten, Ursache des Sorghumbrandes. 143

Vergärung s. Gärung.
Vergärungsgrad, End-, Einfluß von Maischtemperatur. 479
Veronica Beccabunga, Gallenbildung. 325
Verticillium Oxana, Parasit des Cleonus punctiventris. 748
Verticillium-Form, Beziehung zur Serehkrankheit des Zuckerrohres. 507
Vibrio aquatilis fluorescens, Vorkommen in Würze und Bier. 291
— cholerae, Einwirkung auf Zuckerarten. 399
— —, Lebensfähigkeit im Biere. 291
— —, Verhalten gegen hohen Druck. 309
— Finkleri, Verhalten gegen hohen Druck. 309
Vibrionenarten, Vorkommen in Würze und Bier. 291
Volutella florida n. sp. Höhnel auf einer toten Wespe. 132
Volutin, Vorkommen bei Bakterien. 3

Wachstum der Gerste, Bakterien als Ursache. 500
Wasser, heißes, als Desinfektionsmittel. 116
—, Ursache der Selbstreinigung. 113
Websteriella aonidiformis, Morphologie. 147
— Blanchardi, Morphologie. 147
— zizyphi, Morphologie. 147
Wein, Umschlagen des, durch Fermente verursacht. 488
Weinhefe, Verarbeitung von Glykogen. 186
Weißblech, Wirkung auf die Gärung. 94
Weizensteinbrand, Bekämpfung. 330
Wildverbiß, Schutz der Nadelholzpflanzen. 153
Willia anomala s. Saccharomyces anomalus.
— E. Chr. Hansen, Systematik. 538
— Saturnus s. Saccharomyces Saturnus.
Würze, Beeinflussung durch aus Wasser isolierte Bakterien. 290

Zähmilch (Tätmjölk), hergestellt mittels einer Bacterium-Güntheri-Form. 386
Zaghouania Phillyreae (D.C.) Pat., Vorkommen im Litoralgebiet und Istrien. 140
Zea Mays, Wirt von Puccinia Maydis. 315
Zelluloid, Wirkung auf die Gärung. 94
Zersetzung der Butter, Ursache. 388

Zersetzung von Salicylsäure durch Schimmelpilze. 501
Zicrona coerulea, Parasit der Haltica ampelophaga. 150
Zink, Wirkung auf die Gärung. 94
Zinn, Wirkung auf die Gärung. 94
Zuckerarten, Einwirkung von Bakterien. 397
Zuckerlösungen, konzentrierte, Einfluß auf Hefeinvertin. 122
Zuckerrohr, Ursache der Serehkrankheit. 507
Zuckerrübe, Gelblaubigkeit, Ursache. 323
—, geschädigt durch Cleonus punctiventris. 747
Zuckerrübe, geschädigt durch Feldmaus. 508
—, Krankheiten. 746
—, Schädlinge. 745
Zygosaccharomyces, Ascusbildung. 476
—, Morphologie, Systematik. 534. 537
Zymase, Bildung von Fruchtäther. 481
—, Bildung von Gärarona. 482
Zymin s. Hefe, abgetötete.
—, Gaswechsel. 402
Zythia alboolivacea n. sp. Höhnel auf faulem Carpinus-Holze. 132
— maxima Fautrey, Systematik. 133
— Rhinanthi (Lib.), Systematik. 133

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Amylomyces β, Entwickelungsprozeß, Kurve. 658
—, Stickstoffbildung. 668—670
—, Zuckerverbrauch, Kurve. 658
—, Zunahme der Trockensubstanz, Kurve. 658—663
Apparat zur Untersuchung des Hefegaswechsels. 207
Aprikosenbaum, Frostblasen an den Blättern. 254

Bacillus alvei, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. III). 552
— Berestnewi n. sp. Lepeschkin, Entwickelung, Vermehrung, Oidienbildung, Keimung. 643
— — — —, Kultur. 647
— — — —, Verzweigung. 646. 648
— lacticola, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. II). 552
— lactis Flügge, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. II u. III). 552
— megatherium, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. I). 552
— —, Struktur. (Taf., Fig. 13—18). 572
— parvus, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. III). 552
— robur, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. I.) 552
— silvaticus, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. I u. II). 552
— sphaericus, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. III). 552
— teres, Sporen, Kolonieen etc. (Taf. II). 552
Bakterien, Boden-, Denitrifikationsversuch mit Giltayscher Lösung (Taf. II—V). 448
Bakterien, Boden-, Denitrifikationsversuche mit Salpeterbouillon (Taf. I). 448
—, Milchsäure-, Gelatine verflüssigend. 588
— aus Periplaneta orientalis, Struktur (Taf., Fig. 1—12). 572
—, thermophile (Taf.). 354
—, Wirkung auf Kasein, durch Milch-Agar-Platten veranschaulicht (Taf). 592
Buchsbaum, Frostflecken an den Blättern. 257. 259. 260
Cystopus candidus Lév., Infektion von Brassica Rapa (Taf., Fig. P). 724
— — — — — Capsella bursa pastoris (Taf., Fig. A—J). 724
— — — — — Lepidium sativum (Taf., Fig. K—O). 724
Cytospora Grossularia n. sp. Laubert, Konidien (Taf., Fig. 5 u. 6). 410
— — — —, Stroma (Taf., Fig. 1—4). 410
Hefe, Gaswechsel, Kurven. 215
Heu, Apparat zur Nachahmung der Selbsterhitzung (Taf., Fig. 2). 680
—, selbsterhitztes, Stengelquerschnitt (Taf., Fig. 1). 680

Käse, Edamer, Blähungserreger (Taf.). 92
—, Grana-, Bakterienverteilung (Taf.). 80
Leinstengel, Querschnitte (Taf., Fig. 1—3). 42

Leinstengel, Wirkung der Bakterien der Cellulosegärung (Taf., Fig. 7—9). 42
—, — — — — — Pektingärung (Taf., Fig. 4—6). 42
Maß zum Entnehmen von Zymin. 206
Pseudomonas campestris, Kultur. 727. 728
Pseudomonas campestris, Sitz im Gefäßbündel des Kohlblattes. 733
— —, Sitz im Mesophyll des Kohlblattes. 728
Saccharomyces cerevisiae, Gärung und Atmung, Kurve. 651
Schizosaccharomyces Pombe, Gärung und Atmung, Kurve. 653

IV. Neue Literatur.

94. 153. 269. 332. 521. 751.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.